

**ISOLASI DAN ANALISIS KETAHANAN BAKTERI
DI DAERAH BEKAS TAMBANG TELAGA TIGA WARNA
TULUNGAGUNG TERHADAP LOGAM BERAT TIMBAL (Pb)**

SKRIPSI

**Oleh :
SITI HARDIANTI IHSANI
NIM. 15630009**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**ISOLASI DAN ANALISIS KETAHANAN BAKTERI
DI DAERAH BEKAS TAMBANG TELAGA TIGA WARNA
TULUNGAGUNG TERHADAP LOGAM BERAT TIMBAL (Pb)**

SKRIPSI

**Oleh:
SITI HARDIANTI IHSANI
NIM. 15630009**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020**

**ISOLASI DAN ANALISIS KETAHANAN BAKTERI
DI DAERAH BEKAS TAMBANG TELAGA TIGA WARNA
TULUNGAGUNG TERHADAP LOGAM BERAT TIMBAL (Pb)**

SKRIPSI

**Oleh:
SITI HARDIANTI IHSANI
NIM. 15630009**

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 24 November 2020**

Pembimbing I



**Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P
NIP. 19750410 200501 2 009**

Pembimbing II



**Oky Bagas Prasetyo, M.Si
NIDT. 19890113 20180201 1 244**

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan**



**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

**ISOLASI DAN ANALISIS KETAHANAN BAKTERI
DI DAERAH BEKAS TAMBANG TELAGA TIGA WARNA
TULUNGAGUNG TERHADAP LOGAM BERAT TIMBAL (Pb)**

SKRIPSI

**Oleh:
SITI HARDIANTI IHSANI
NIM. 15630009**

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 24 November 2020**

Penguji Utama	Eny Yulianti, M.Si NIP. 19760611 200501 2 006
Ketua Penguji	Dewi Yuliani, M.Si NIDT. 19880711 20160801 2 067
Sekretaris Penguji	Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P NIP. 19750410 200501 2 009
Anggota Penguji	Okky Bagus Prasetyo, M.Si NIDT. 19890113 20180201 1 244

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan**


**Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002**

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Siti Hardianti Ihsani

NIM : 15630009

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : Isolasi dan Analisis Ketahanan Bakteri di Daerah Bekas
Tambang Telaga Tiga Warna Tulungagung Terhadap
Logam Berat Timbal (Pb)

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 23 Desember 2020
Yang membuat pernyataan



Siti Hardianti Ihsani
NIM. 15630009

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur kepada Allah SWT, Skripsi ini saya dedikasikan kepada :

Orang tua nomor 1 di dunia

Bapak Sanudin & Ibu Seni Susilawati

Terima kasih atas segala dukungan dan doa yang tak pernah terputus

...

Kedua saudari kandungku,

Nur Aisya Ihsani & Zainullatifa Ihsani

Yang selalu bertanya di ujung telfon dengan pertanyaan

“Kapan lulus? Kapan wisuda? Kapan Pulang? “

...

Kepada seluruh dosen, staf laboran, dan administrasi jurusan kimia yang selalu memberikan bimbingan, nasehat, pengalaman dan banyak ilmu yang sangat berarti dan bermanfaat baik dalam proses pembelajaran S-1 maupun dalam proses penelitian

sehingga saya bisa memahami ilmu kimia dan agama dengan baik, serta

terselesaikannya penelitian dan penulisan naskah ini dengan baik dan lancar.

Terutama kepada Ibu Akyun selaku pembimbing penelitian, Ibu Dewi selaku konsultan penelitian dan Ibu Diana selaku wali dosen. Kiranya semoga kebaikan Bapak dan Ibu semuanya mendapat balasan yang lebih baik dari Allah SWT....

Aaamiiinnn....

...

Kepada kawan seperjuangan dan sahabat terbaikku Asam Sitrat (Aldi, Irfan, Firda, Rahma, Fayrus, Iim, Sukria, Anggun), Kuliner Squad (Mukhlis, Nende, Ayyuma, Izza, Nissak, Mbak Aan, Mbak Dedew), Seluruh teman-teman Kimia A '15 (Ajeng, Fiddin, Laila) dan Kimia Angkatan '15 (Lala) yang telah menjadi bagian dalam hidup dan kesuksesanku.

...

MOTTO

“Pernah ada sesuatu yang rasanya berat sekali, ternyata bisa dilewati juga”

“Pernah ada sesuatu yang rasanya sangat hancur dan tak akan ada jalan lagi, ternyata semuanya masih baik-baik saja”

“Kita Cuma perlu bertahan dan terus melaluinya”

“Bisa jadi yang buruk hanya dipikiran saja”

-Boy Candra-

KATA PENGANTAR

Assalamualaikum wa Rahmatullahi wa Barakatuh

Alhamdulillah, puji syukur atas kehadiran Allah SWT. yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya kepada penulis atas terselesainya skripsi ini. Sholawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada junjungan kita Nabi Besar Muhammad SAW. yang merupakan pencetus kehidupan keadilan, merevolusi dunia, penuntun umat agar senantiasa berpegang teguh pada Al-Qur'an dan al-Hadits dan beliau telah membimbing kita dari jalan yang salah menuju ke jalan yang benar.

Penyusun mengucapkan syukur Alhamdulillah atas terselesaikannya skripsi penelitian dengan judul “Isolasi dan Analisis Ketahanan Bakteri di Daerah Bekas Tambang Telaga Tiga Warna Tulungagung Terhadap Logam Berat Timbal (Pb)”. Skripsi ini dimaksudkan sebagai salah satu syarat untuk memenuhi kewajiban untuk jenjang S1 dalam tugas akhir.

Selama proses penyusunan skripsi ini, penyusun memperoleh banyak bimbingan, nasihat dan bantuan dari berbagai pihak. Penyusun mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Ayah dan Ibu tercinta (Sanudin dan Seni Susilawati) yang telah dan akan tetap memberikan banyak nasihat, doa dan dukungan baik moril maupun materil yang tak mungkin dapat terbalaskan.
2. Kedua saudari (Nur Aisya Ihsani dan Zainullatifa Ihsani) yang selalu memberikan doa dan dukungan setiap saat.
3. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
5. Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P, selaku dosen pembimbing, ibu Dewi Yuliani, M.Si selaku konsultan, dan bapak Oky Bagas Prasetyo, M.Si selaku pembimbing agama yang telah memberikan pengarahan, bimbingan dan nasehat kepada penyusun selama menyelesaikan laporan ini.

6. Seluruh dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman, wacana dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penyusun.
7. Semua mahasiswa Kimia angkatan 2015 (Lala), khususnya kelas Kimia A (Ajeng, Rahma, Laila, Fiddin) dan BIODIM squad (Mbak Aan, Mbak Dedew, Nisa, Nende, Irfan, Ayuma, Izza, Muchlis) yang telah memberi motivasi, informasi dan masukannya kepada penyusun dalam menyelesaikan laporan hasil penelitian ini.
8. Semua rekan-rekan dan semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu atas segala bantuan dan motivasinya kepada penyusun.

Penulis menyadari akan kekurangan dan keterbatasan dalam penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, diperlukan kritik dan saran yang membantu dalam upaya memperbaiki tulisan dan isi sehingga menjadi lebih baik lagi. Semoga tugas pembuatan skripsi ini dapat menjadi acuan dalam pembelajaran dan bermanfaat bagi kita semuanya. Aamiin.

Wassalamualaikum wa Rahmatullahi wa Barakatuh

Malang, 3 Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
MOTTO	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	ix
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
ABSTRAK	xiv
ABSTRACT	xv
مستخلص البحث	xvi
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah	5
1.5 Manfaat Penelitian	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 7
2.1 Bekas Pertambangan Telaga Tiga Warna Tulungagung	7
2.2 Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) di Daerah Pertambangan....	8
2.3 Pelestarian Lingkungan Hidup dalam Pandangan Islam	9
2.4 Isolasi Bakteri	12
2.5 Identifikasi Bakteri Secara Makroskopik	13
2.6 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri	14
2.7 Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	15
 BAB III METODE PENELITIAN	 17
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	17
3.2 Alat dan Bahan	17
3.2.1 Alat.....	17
3.2.2 Bahan	17
3.3 Tahapan Penelitian.....	18
3.4 Metode Penelitian	18
3.4.1 Pengambilan Sampel.....	18
3.4.2 Isolasi Bakteri Pendegradasi Logam.....	18
3.4.3 Regenerasi dan Uji Morfologi Bakteri.....	19
3.4.4 Uji <i>Total Plate Count</i> (TPC)	19
3.4.4.1 Persiapan Inokulum Bakteri	19
3.4.4.2 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri	19
3.4.5 Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC).....	20

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
4.1 Pengambilan Sampel	21
4.2 Isolasi Bakteri Pendegradasi Logam	22
4.3 Regenerasi dan Uji Morfologi Bakteri	24
4.4 Uji <i>Total Plate Count</i> (TPC)	26
4.5 Uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC)	28
4.6 Manfaat Bakteri dalam Islam	31
BAB V PENUTUP	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN.....	43

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Telaga Tiga Warna Tulungagung	7
Gambar 4.1 Lokasi titik pengambilan sampel Telaga Tiga Warna	21
Gambar 4.2 Hasil isolasi bakteri	23
Gambar 4.3 Koloni bakteri hasil isolasi	25
Gambar 4.4 Koloni bakteri setelah regenerasi	26
Gambar 4.5 Hasil uji <i>Total Plate Count</i> (TPC)	27
Gambar 4.6 Hasil zona hambat isolat T3P3	29
Dokumentasi Kegiatan Penelitian	52

DAFTAR TABEL

Tabel 4.1 Hasil pengukuran parameter lingkungan pada Telaga Tiga Warna.	22
Tabel 4.2 Hasil isolasi bakteri T1, T2, dan T3	23
Tabel 4.3 Isolat yang digunakan untuk tahap selanjutnya	26
Tabel 4.4 Hasil uji <i>Total Plate Count</i> (TPC) tiap sampel	27
Tabel 4.5 Hasil uji <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> (MIC) bakteri	30
Tabel L.1 Hasil uji morfologi koloni bakteri T2 secara makroskopik	48
Tabel L.2 Hasil uji morfologi koloni bakteri T3 secara makroskopik	48
Tabel L.3 Morfologi bakteri yang dipilih untuk regenerasi	49

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	43
Lampiran 2 Diagram Alir	44
Lampiran 3 Perhitungan	47
Lampiran 4 Hasil Uji Morfologi Koloni Bakteri	48
Lampiran 5 Morfologi Bakteri yang Dipilih untuk Regenerasi	49
Lampiran 6 Data <i>Total Plate Count</i> (TPC) 1 ulangan	50
Lampiran 7 Perhitungan Data <i>Total Plate Count</i> (TPC)	51
Lampiran 8 Dokumentasi Kegiatan Penelitian	52

ABSTRAK

Ihsani, S. H. 2020. Isolasi dan Analisis Ketahanan Bakteri di Daerah Bekas Tambang Telaga Tiga Warna Tulungagung Terhadap Logam Berat Timbal (Pb). Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P., Konsultan: Dewi Yuliani, M.Si.

Kata kunci: bakteri, bioremediasi, air bekas penambangan, logam berat timbal (Pb), *total plate count* (TPC), *minimum inhibitory concentration* (MIC).

Daerah bekas tambang mengandung zat pencemar berupa logam berat Pb yang dapat menyebabkan terganggunya ekosistem dan kesehatan manusia. Salah satu upaya untuk menangani hal tersebut yaitu menggunakan metode bioremediasi dengan memanfaatkan bakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan morfologi dan melihat ketahanannya terhadap logam Pb dalam berbagai konsentrasi. Tujuh isolat yang dihasilkan dari hasil isolasi bakteri yaitu T2P1a, T2P1b, T2P2, T3P1, T3P2, T3P3, dan T3P4. Bentuk morfologi yang dihasilkan dari seluruh isolat rata-rata berbentuk bulat, berwarna putih kecoklatan, berukuran kecil, memiliki tepi rata dan permukaan yang timbul. Jumlah koloni terbanyak pada Telaga 2 dan Telaga 3 berturut-turut dihasilkan oleh T2P2 dan T3P2 dengan jumlah koloni sebanyak $1,3 \times 10^8$ dan $3,3 \times 10^{10}$ cfu/mL yang ditumbuhkan pada media padat tanpa adanya kandungan logam Pb dengan masa inkubasi 2x24 jam pada suhu ruang. Ketahanan bakteri terhadap berbagai konsentrasi logam berdasarkan uji *minimum inhibitory concentration* (MIC) menunjukkan bahwa seluruh isolat pada konsentrasi Pb 6 mM rata-rata tidak menghasilkan diameter zona hambat (0,00 mm), konsentrasi Pb 15 mM menghasilkan diameter zona hambat antara 0,63-4,30 mm, dan konsentrasi Pb 30 mM menghasilkan diameter zona hambat antara 1,70-6,30 mm. Hasil analisis zona hambat menunjukkan bahwa beberapa isolat yang dihasilkan dari Telaga 2 dan Telaga 3 resisten terhadap logam Pb pada konsentrasi 6 mM dibandingkan dengan konsentrasi 15 dan 30 mM.

ABSTRACT

Ihsani, S. H. 2020. Isolation and Analysis of Bacteria Resistance in The Ex-Mining Area of Tiga Warna Tulungagung Lake for Lead Heavy Metal (Pb). Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P., Consultant: Dewi Yuliani, M.Si.

Keywords: bacteria, bioremediation, ex-mining water, lead heavy metal (Pb), total plate count (TPC), minimum inhibitory concentration (MIC).

The ex-mining area contains pollutants in the form of lead heavy metal which can disrupt ecosystems and human health. One of the efforts to manage this problem is using the bioremediation method by utilizing bacteria. Aims of this research to identify bacteria based on morphology and see their resistance to lead heavy metal in various concentrations. Seven isolates resulted from bacterial isolation, namely T2P1a, T2P1b, T2P2, T3P1, T3P2, T3P3, and T3P4. The morphology of all isolates generally was round, brownish white, small in size, had flat edges and a raised surface. The highest number of colonies in Lake 2 and Lake 3 was produced by T2P2 and T3P2, with a colony number of 1.3×10^8 and 3.3×10^{10} cfu/mL grown on solid media without any lead heavy metal content with an incubation period of 2x24 hours at room temperature. The resistance of bacteria to various metal concentrations based on the minimum inhibitory concentration (MIC) test showed that all isolates at lead concentration 6 mM averages did not produce an inhibition zone diameter (0.00 mm), a lead concentration 15 mM resulted in an inhibition zone diameter of 0.63-4.30 mm, and a lead concentration 30 mM resulted in a zone of inhibition between 1.70-6.30 mm. The results of the inhibition zone analysis showed that some of the isolates produced from Lake 2 and Lake 3 were resistant to lead heavy metal at a concentration 6 mM compared to concentrations of 15 and 30 mM.

مستخلص البحث

إحساني، س. ه. ٢٠٢٠. العزل والتحليل المقاومة البكتيرية في منطقة التعدين المستخدمة في بركة تيغا وارنا تولونغ أغونغ ضد الرصاص المعادن الثقيلة (Pb). قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا، جامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرفة الأولى: الدكتور أكيونوالجنة، الماجستير؛ المشرفة الثانية: ديوي يولياني، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: البكتيريا، والمعالجة الحيوية، والتعدين المياه المستخدمة، والرصاص المعادن الثقيلة (Pb)، مجموع عدد الصفائح (TPC)، الحد الأدنى من التركيز المثبط (MIC).

وتحتوي منطقة التعدين المستخدمة على ملوثات في شكل Pb المعادن الثقيلة التي يمكن أن تسبب اضطرابا في النظم الإيكولوجية وصحة الإنسان. ومن بين الجهود المبذولة للتعامل مع هذا الأمر استخدام أساليب المعالجة البيولوجية باستخدام البكتيريا. تهدف الدراسة إلى تحديد البكتيريا على أساس المورفولوجيا والنظر في مقاومتها لمعادن Pb في مجموعة متنوعة من التركيزات. العزلات السبعة الناتجة عن العزل البكتيري هي T2P1a و T2P1b و T2P2 و T3P1 و T3P2 و T3P3 و T3P4. الشكل المورفولوجي الناتج عن العزلة الكاملة هو في المتوسط دائري، أبيض بني، صغير الحجم، لديه حافة مسطحة و سطح منقوش. تم إنتاج أكبر عدد من المستعمرات في بركة 2 و بركة 3 على التوالي من قبل T2P2 و T3P2 مع مستعمرة إجمالية من 108×1.3 و 1010×3.3 كفو / مل نمت في وسائل الإعلام الكثيفة في غياب محتوى المعادن Pb مع فترة حضانة من 24×2 ساعة في درجة حرارة الغرفة. المقاومة البكتيرية لمختلف تركيزات المعادن على أساس الحد الأدنى من تركيز المثبطة (MIC) وأظهرت الاختبارات أن جميع العزل في متوسط تركيز Pb من 6 مل م لم تنتج قطر منطقة المثبطة (0.00 ملم)، تركيز pb من 15 ملم أدى إلى قطر منطقة مثبطة بين 0.63-4.30 ملم، وتركيز Pb من 30 ملم مما أدى إلى قطر منطقة مثبطة بين 1.70-6.30 ملم. وأظهرت نتائج تحليل منطقة الرقيق أن بعض العزلات المنتجة من البحيرة 2 والبحيرة 3 كانت مقاومة لمعادن Pb بتركيزات 6 ملم مقارنة بتركيزات 15 و 30 ملم.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Industri pertambangan merupakan industri yang diandalkan pemerintah Indonesia dalam mendatangkan devisa. Hal ini menyebabkan adanya oknum yang melakukan kegiatan pertambangan tanpa izin pemerintah yang cenderung mengakibatkan kerusakan pada lingkungan (Anjami, 2017). Limbah yang dihasilkan memberi dampak pencemaran terhadap lingkungan sekitar apabila tidak ditangani dengan baik. Salah satu penyebab pencemarannya yaitu adanya kandungan logam berat yang melebihi ambang batas yang telah ditetapkan oleh pemerintah.

Logam berat merupakan unsur logam dengan berat molekul tinggi, dalam kadar rendah logam berat pada umumnya sudah bersifat toksik bagi tumbuhan, hewan dan manusia (Ariansyah dkk, 2012). Beberapa penelitian menyatakan bahwa terdapat pencemaran logam berat Pb di daerah sekitar pertambangan. Wahyuni dkk (2013) menyatakan bahwa adanya kandungan logam Pb pada air di daerah penambangan masyarakat Desa Batu Belubang Kabupaten Bangka Tengah telah melebihi baku mutu. Ridinata (2012) menyebutkan bahwa di sekitar industri tambang batubara pada badan air sungai Pendulangan Desa Pangkalan Kuansing ditemukan cemaran berupa logam Pb. Kurniawan (2013) juga menyatakan bahwa kandungan logam Pb pada air laut di pesisir Kabupaten Bangka yang terdapat penambangan timah sudah tercemar. Penelitian tersebut dapat membuktikan bahwa adanya logam berat Pb di daerah sekitar pertambangan.

Kandungan logam Pb dalam air dan sedimen di daerah sekitar pertambangan telah dibuktikan oleh beberapa penelitian. Menurut Fujiastuti dkk (2013), terdapat logam Pb sebesar 1,43 mg/L di perairan Muara Sungai Palu. Wahyuni dkk (2013) menyatakan bahwa terdapat logam Pb pada air di daerah penambangan timah masyarakat Desa Batu Belubang Kabupaten Bangka Tengah stasiun 1 dan 2 berturut-turut sebesar 0,09260 dan 0,01890 ppm. Adapun menurut Warni dkk (2017), terdapat kandungan logam Pb dalam sedimen sebesar 112,76 mg/kg di Pelabuhan Jetty Meulaboh. Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup (2004) menyatakan bahwa baku mutu Pb dalam air sebesar 0,008 mg/L. Menurut *Canadian Council of Ministers of The Environment* (CCME) (1999), batas Pb dalam sedimen sebesar 30,2 mg/kg. Mengacu pada baku mutu tersebut, kandungan Pb pada air dan sedimen di sekitar daerah pertambangan sudah melebihi ambang batas yang telah ditetapkan.

Penyebab utama logam berat menjadi bahan pencemar berbahaya yaitu tidak dapat terurai (*non-degradable*) dan mudah terakumulasi. Konsentrasi logam berat yang tinggi dapat menyebabkan pencemaran lingkungan dan mengganggu kesehatan manusia (Lindsey dkk, 2004; Ika dan Said, 2012). Kandungan zat pencemar tersebut mengindikasikan adanya ketidakseimbangan alam yang akhirnya menyebabkan kerusakan, sebagaimana Allah SWT. berfirman dalam surat Ar-Rum ayat 41.

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ



“Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusi, supay Allah merasakan kepada mereka sebahagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)”.

Kata *الْفَسَادُ* dalam ayat tersebut berarti “kerusakan”. Menurut Tafsir Al Misbah, *al-fasad* adalah keluarnya sesuatu dari keseimbangan, baik sedikit maupun banyak. Keseimbangan yang dimaksud dapat merujuk pada keseimbangan lingkungan di sekitar, dimana interaksi antara organisme dan faktor lingkungan serta komponen yang ada di dalamnya dapat berjalan dengan proporsional (Shihab, 2002).

Keseimbangan lingkungan yang tidak proporsional akan menyebabkan adanya kerusakan lingkungan, baik di darat maupun di laut yang diakibatkan oleh kegiatan manusia sendiri. Salah satu kerusakan yang ditimbulkan oleh manusia yaitu perairan yang mulai tercemar oleh logam berat sehingga membahayakan biota, sumber daya, dan ekosistem perairan. Hal tersebut juga berdampak terhadap kesehatan manusia ketika mengonsumsi sumber makanan dari perairan. Upaya yang dilakukan untuk mengurangi pencemaran logam tersebut yaitu menggunakan metode bioremediasi (Rossidy, 2008). Langkah awal dalam pelaksanaan metode bioremediasi yaitu melakukan isolasi dan uji ketahanan bakteri terhadap logam berat.

Uji ketahanan bakteri atau uji *minimum inhibitory concentration* (MIC) bertujuan untuk mengetahui konsentrasi minimum yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Beberapa penelitian menyatakan bahwa bakteri dapat bertahan dalam berbagai konsentrasi logam timbal (Pb). De Fretes dkk (2019) menyatakan bahwa nilai MIC untuk logam timbal (Pb) 10 isolat bakteri yang diisolasi dari sedimen mangrove di Pengudang dan Tanjung Uban, Pulau Bintan berkisar antara 800-900 ppm. Hasil MIC dalam penelitian Sabdono dkk (2012) menggunakan 22 isolat bakteri berkisar antara 2-10 mM yang diisolasi dari jaringan

karang laut Jawa Tengah. Hal ini menunjukkan bahwa bakteri mampu mempertahankan diri di lingkungan yang mengandung logam timbal (Pb) dalam berbagai konsentrasi dan dapat dimanfaatkan sebagai agen bioremediasi.

Agen bioremediasi yang dapat dimanfaatkan sebagai biosorben dan bioakumulator adalah bakteri yang resisten terhadap logam berat (Zulaika dkk, 2012). Adapun bakteri yang dapat mendegradasi logam Pb yaitu *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., *Corynebacterium* sp., dan *Staphylococcus aureus* masing-masing dapat mereduksi sebesar 89,66; 87,97; 86,64, dan 95,85% (Kafilzadeh dkk, 2012; Maulana dkk, 2017). Berdasarkan beberapa penelitian yang dilakukan dapat dikatakan bahwa bakteri berpotensi sebagai agen pendegradasi logam berat.

Penelitian ini mengambil sampel air di daerah bekas tambang Telaga Tiga Warna, Tulungagung yang digunakan untuk isolasi bakteri. Tempat ini merupakan daerah bekas tambang tembaga yang dikelola perorangan dan bekerja sama dengan pihak swasta (CV). Telaga ini dikenal sebagai Telaga Tiga Warna karena mengalami perubahan warna menjadi hijau, hitam dan biru pada empat galian yang berbeda (Berita Satu, 2015). Pengelolaan yang dilakukan perorangan tanpa campur tangan dari suatu pabrik, dapat mengindikasikan adanya pengolahan limbah yang tidak benar. Adapun munculnya perubahan warna air di telaga tersebut memungkinkan adanya kandungan logam berat timbal (Pb) yang melebihi ambang batas yang telah ditetapkan.

Berdasarkan latar belakang di atas, dengan adanya penelitian ini diharapkan dapat memperoleh isolat bakteri yang bisa diaplikasikan untuk mengurangi dampak pencemaran logam Pb. Selain itu, diharapkan juga dapat dimanfaatkan sebagai kepentingan penelitian lain yang sejenis.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana morfologi isolat bakteri yang dihasilkan oleh sampel air bekas tambang Telaga Tiga Warna, Tulungagung ?
2. Bagaimana ketahanan bakteri terhadap logam berat timbal (Pb) dalam berbagai konsentrasi ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui morfologi isolat bakteri yang dihasilkan oleh sampel air bekas tambang Telaga Tiga Warna, Tulungagung berdasarkan isolasi bakteri.
2. Untuk mengetahui ketahanan bakteri terhadap logam berat timbal (Pb) dalam berbagai konsentrasi.

1.4 Batasan Masalah

1. Pengambilan sampel dilakukan di Telaga Tiga Warna, Tulungagung (daerah bekas tambang).
2. Logam yang digunakan yaitu timbal (Pb) yang telah diperkaya oleh $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ dalam media.
3. Karakteristik bakteri hasil isolasi dilihat berdasarkan uji morfologi.
4. Perhitungan hasil uji *total plate count* (TPC) dilakukan dengan cara manual.
5. Ketahanan bakteri terhadap logam Pb dilihat berdasarkan perhitungan diameter zona hambat.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi adanya bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi timbal (Pb) di Telaga Tiga Warna, Tulungagung.
2. Memberikan solusi penanganan pencemaran logam timbal (Pb) pada lingkungan menggunakan cara yang aman dan efektif dengan memanfaatkan bakteri dari sampel yang digunakan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bekas Pertambangan Telaga Tiga Warna Tulungagung

Telaga tiga warna Tulungagung merupakan daerah bekas pertambangan. Telaga ini berada di Bukit Puthuk Kreet, Desa Panggunguni, Kecamatan Pucanglaban, Kabupaten Tulungagung. Menurut ahli Geologi Tulungagung, air telaga di kawasan ini memiliki kandungan berbagai macam logam yang ditandai dengan adanya perbedaan warna pada lokasi yang berbeda (Berita Satu, 2015). Kondisi masing-masing telaga dapat dilihat pada Gambar 2.1.



A



B



C

Gambar 2.1 Telaga Tiga Warna Tulungagung (A) Telaga 1 berwarna biru kehijauan (B) Telaga 2 berwarna coklat kehitaman (C) Telaga 3 berwarna hijau (Dokumentasi Pribadi).

Penggalian tambang dilakukan pada tahun 2010-2012 (Teras Jatim, 2015). Menurut Tenaga Ahli Geologi Dinas Pekerjaan Umum Energi Sumber Daya Mineral (PUESDM) Tulungagung, air telaga di lokasi bekas tambang ini tidak hanya mengandung tembaga, tetapi juga hasil tambang lain seperti emas, timbal serta arsenik. Pemberhentian pertambangan disebabkan akibat para penambang sering terkena penyakit seperti gatal. Jika air telaga mengenai kulit, biasanya dampak klinis yang dirasakan adalah gatal-gatal atau bahkan lecet. Selain itu, berhentinya proses penambangan juga terjadi akibat perubahan regulasi bahan pertambangan yang telah dibuat oleh pemerintah (Berita Satu 2015).

2.2 Pencemaran Logam Berat Timbal (Pb) di Daerah Pertambangan

Logam berat Pb adalah logam dengan nomor atom 82, sedangkan berat atomnya yaitu 207 g/mol (Palar, 1994). Sifat dari logam berat ini yaitu beracun, terakumulasi dalam tubuh organisme, sulit mengalami degradasi. Pada konsentrasi tinggi, logam berat bersifat toksik karena sukar terurai. Apabila logam berat masuk ke dalam perairan akan terakumulasi terutama dalam sedimen dan terikat sebagai senyawa organik dan anorganik (Kurniasari, 2005).

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa adanya kandungan logam Pb di daerah sekitar bekas tambang. Wahyuni dan Afdal (2018) mengambil sampel tanah di sekitar daerah pertambangan Kota Swahlunto pada 5 titik berbeda yang menghasilkan kadar logam Pb rata-rata 116 ppm. Noviard dan Widodo (2013) dalam penelitiannya mengambil sampel air di bagian hulu, tengah, hilir, dan sumur kawasan penambangan emas rakyat yang mengandung logam Pb masing-masing sebesar 0,02; 0,03; 0,02; dan 0,005 mg/L. Menurut Rochyatun dkk (2004),

konsentrasi Pb dalam sedimen Muara Sungai Cisadane sekitar pertambangan yaitu 9,42-34,40 mg/L. Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, dapat dikatakan bahwa terdapat kandungan Pb di daerah sekitar bekas tambang.

Baku mutu Pb dalam air dan sedimen, telah ditetapkan oleh pemerintah yang dapat digunakan sebagai acuan untuk membandingkan kadar logam Pb pada sampel. Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup (2004) menyatakan bahwa baku mutu Pb dalam air sebesar 0,008 mg/L. Adapun menurut *Canadian Council of Ministers of The Environment* (CCME) (1999), batas Pb yang diperkenankan dalam sedimen sebesar 30,2 mg/kg. Berdasarkan baku mutu yang sudah ditetapkan, kandungan logam berat Pb di daerah sekitar pertambangan sudah melebihi ambang batas yang ditentukan.

2.3 Pelestarian Lingkungan Hidup dalam Pandangan Islam

Lingkungan hidup merupakan anugerah yang telah diberikan Allah SWT. kepada makhluk-Nya untuk dimanfaatkan secara baik. Lingkungan sekitar harus dijaga dan dilestarikan sebagai wujud kepedulian terhadap ciptaan Allah SWT. Islam telah mengajarkan tentang pemeliharaan lingkungan hidup yang harus diimplementasikan dalam sikap dan perilaku manusia untuk tidak membuat kerusakan di muka bumi (Suriyani dan Kotijah, 2013).

Nabi Muhammad SAW. telah memberikan keleluasaan terhadap umatnya untuk mengurus duniawi menurut akal yang dikaruniakan oleh Allah SWT. sebagaimana yang sudah digariskan dalam islam. Hal ini sesuai dengan hadits yang diriwayatkan oleh Imam Muslim No. 17.

إِنَّ اللَّهَ كَتَبَ الْإِحْسَانَ عَلَى كُلِّ شَيْءٍ

"Sesungguhnya Allah mewajibkan kelakuan baik terhadap segala sesuatu".

Lafadz الْإِحْسَانَ berarti kebaikan, memiliki makna yang ditujukan kepada pengawasan dan baiknya ketaatan. Artinya, barang siapa yang merasa diawasi Allah maka ia akan memperbaiki perbuatannya (Manzur, 2003). Hal ini menunjukkan bahwa manusia sangat dianjurkan berbuat baik dalam setiap perbuatan, termasuk dalam menjaga bumi yang ditinggali. Manusia hendaknya dapat mengendalikan diri untuk tidak melakukan kerusakan di muka bumi baik terhadap alam maupun lingkungan hidup. Allah SWT berfirman dalam surat Al A'raf ayat 56.

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ ﴿٥٦﴾
"Dan janganlah kamu membuat kerusakan di muka bumi, sesudah (Allah) memperbaikinya dan berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik".

Lafadz تُفْسِدُوا mengandung arti "kerusakan". Menurut Jazairi (2007) kata tersebut mengandung arti jangan berbuat kerusakan di muka bumi dengan berbuat syirik dan maksiat setelah adanya *ishlah* (perbaikan) melalui tauhid dan ketaatan. Kemaksiatan yang dimaksud mencakup segala perkara yang dilarang, seperti membunuh manusia dan hewan, merusak tanaman, merusak pikiran, dan segala perbuatan dosa lainnya.

Tatanan lingkungan hidup (ekosistem) yang diciptakan Allah SWT. mempunyai hukum keseimbangan (equilibrium). Hubungan timbal balik antara manusia dan alam juga harus berlangsung dengan seimbang. Apabila terjadi

gangguan keseimbangan lingkungan hidup (ekosistem), maka akan mengakibatkan terjadinya kerusakan lingkungan. Salah satu pencemaran lingkungan yang terjadi yaitu pencemaran logam berat (Suriyani dan Kotijah, 2013).

Jumlah logam berat dalam lingkungan dapat berkurang dan bertambah terlepas dari aktivitas manusia yang dapat mencemari lingkungan sehingga dapat merugikan manusia itu sendiri. Allah telah menciptakan unsur logam berat dengan kadar yang seimbang di alam. Hal ini tercantum dalam surat Al Mulk ayat 3.

الَّذِي خَلَقَ سَبْعَ سَمَاوَاتٍ طِبَاقًا مَّا تَرَىٰ فِي خَلْقِ الرَّحْمَنِ مِن تَفَوتٍ فَأَرْجِعِ الْبَصَرَ هَلْ تَرَىٰ مِن فُطُورٍ



“Yang telah menciptakan tujuh langit berlapis-lapis. Kamu sekali-kali tidak melihat pada ciptaan Tuhan Yang Maha Pemurah sesuatu yang tidak seimbang. Maka lihatlah berulang-ulang, adakah kamu lihat sesuatu yang tidak seimbang ?”.

Menurut Shihab (2002) dalam Tafsir Al-Mishbah, kata تَفَاوُت pada mulanya berarti kejauhan. Dua hal yang berjauhan menyebabkan terjadinya ketidakserasian atau ketidakseimbangan. Allah menciptakan langit bahkan seluruh makhluk dalam keadaan seimbang sebagai bentuk rahmat, karena apabila tidak seimbang akan menyebabkan kekacauan dan mengganggu tatanan hidup manusia di bumi. Salah satu peristiwa ketidakseimbangan tersebut yaitu adanya sumber tambang yang menguntungkan di area Telaga Tiga Warna, namun terjadi pencemaran logam berat yang dimungkinkan akibat pengolahan limbah yang tidak sesuai ketentuan pemerintah.

2.4 Isolasi Bakteri

Isolasi adalah mengambil mikroorganisme yang terdapat di alam dan ditumbuhkan ke dalam suatu medium buatan. Prinsip dari isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dari mikroba lain yang berasal dari campuran berbagai macam mikroba (Sutedjo, 1996). Teknik dalam isolasi dibagi menjadi 3 macam yaitu metode gores (*streak plate*), metode tuang (*pour plate*), metode sebar (*spread plate*) dan metode pengenceran (*dilution plate*) .

a. Metode gores (*streak plate*)

Isolasi dengan metode gores bertujuan untuk membuat garis sebanyak mungkin di permukaan medium biakan dengan menggunakan jarum ose sehingga terbentuk garis-garis yang semakin sedikit dan menyebabkan koloni terpisah jauh pada garis terakhir goresan (Irianto, 2012). Sabdono (2009) dalam penelitiannya menggunakan metode gores dalam tahap purifikasi setelah melakukan isolasi hingga diperoleh kultur murni.

b. Metode tuang (*pour plate*) dan metode sebar (*spread plate*)

Metode ini bertujuan untuk menentukan perkiraan jumlah bakteri aerob dan anaerob yang hidup dalam suatu cairan. Hasil perhitungan jumlah bakteri ini dinyatakan dalam koloni (Irianto, 2012). Ed-har dkk (2017) dalam penelitiannya melakukan isolasi bakteri menggunakan metode tuang yang sebelumnya telah dilakukan seri pengenceran dari 10^{-4} hingga 10^{-7} . Berbeda dengan metode sebar, teknik ini bertujuan untuk menentukan jumlah bakteri hidup dalam suatu cairan hanya di bagian permukaan media padat (Irianto, 2012).

c. Metode pengenceran (*dilution plate*)

Tujuan dari teknik ini yaitu melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam aquades steril sehingga penanganannya menjadi lebih mudah (Waluyo, 2005). Penelitian Nurtjahyani dan Shyntya (2014) melakukan metode ini dalam menghitung jumlah sel bakteri. Penelitian ini melakukan pengenceran bertingkat dari 10^{-3} hingga 10^{-5} .

2.5 Identifikasi Bakteri Secara Makroskopik

Pengamatan bakteri secara makroskopik dilakukan dengan cara mengamati karakteristik koloni bakteri pada media padat (NA). Karakteristik koloni bakteri yang dapat diamati meliputi bentuk koloni yaitu berbentuk titik, bulat, tidak teratur, seperti akar, dan berfilamen atau berbenang, serta kumparan. Tepi koloni dapat berbentuk utuh, berombak, berbelah, bergerigi, berbenang, dan keriting. Warna koloni terdiri dari keputihan, kekuningan, kemerahan, coklat, jingga, *orange*, *pink*, hijau, dan ungu. Elevasi koloni meliputi rata, timbul datar, melengkung, dan cembung. Struktur koloninya halus mengkilat, kasar, berkerut, atau kering seperti bubuk. Selain itu, ukurannya pun beragam dapat dilakukan dengan mengukur diameter dari koloni bakteri yang tumbuh (Irianto, 2012).

Beberapa penelitian telah memperoleh isolat bakteri dengan berbagai macam morfologi secara makroskopik. Lewaru dkk (2012) telah mengisolasi bakteri pereduksi logam berat Cr (VI) di Sungai Cikijing Rancaekek, Jawa Barat, menghasilkan 10 isolat bakteri yang berwarna putih, kuning pekat, kuning, kuning terang, putih susu, dan *orange*. Husain dan Muchtar (2005) menghasilkan 8 isolat bakteri pengkompleks logam Pb dan Cd yang diisolasi dari limbah cair PT. kawasan

industri Makassar, berwarna putih dan putih kekuningan dengan bentuk bulat dan tidak teratur, memiliki tepi rata dan bergelombang, juga memiliki struktur dalam yang transparan dan tidak tembus cahaya (*opaque*).

2.6 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri

Perhitungan jumlah bakteri menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). *Total plate count* (TPC) merupakan analisis untuk menguji cemaran mikroba dengan menggunakan metode pengenceran dan metode cawan tuang (*pour plate*) (Dwidjoseputro, 2005). Metode pengenceran berfungsi untuk mengurangi jumlah mikroba tumbuh sehingga mempermudah penghitungan koloni yang muncul. Semakin tinggi jumlah mikroba yang terdapat di dalam sampel, semakin tinggi pengenceran yang harus dilakukan (Fardiaz, 2004).

Prinsip dari *total plate count* (TPC) adalah jika sel mikroba masih hidup ditumbuhkan pada medium agar maka sel tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung tanpa menggunakan mikroskop (Fardiaz, 2004). Metode *total plate count* (TPC) dilakukan dengan mengencerkan sumber isolat bakteri (inokulum kerja) kedalam 9 mL garam fisiologis (NaCl 0,85 %) dengan tingkat pengenceran 10^{-1} sampai dengan 10^{-10} . NaCl biasanya digunakan untuk pengganti aquades saat pengecatan, larutan infus, pengenceran dan pengawetan suatu zat (Dharmawan, 2002). Koloni yang dihasilkan pada metode ini dihitung berdasarkan SPC (*Standard Plate Count*) (Fardiaz, 2004).

Perhitungan berdasarkan standar dilakukan pada cawan petri yang berjumlah antara 30-300 koloni (Fardiaz, 2004). Hal ini sesuai menurut Haedioetomo (1993) bahwa jumlah koloni yang muncul pada cawan petri

merupakan suatu indeks bagi jumlah organisme yang dapat hidup dalam sampel. Untuk memenuhi persyaratan statistik, cawan yang dipilih untuk perhitungan koloni adalah yang mengandung antara 30-300 koloni. Sukmawati (2018) juga menyatakan bahwa jumlah koloni mikroba yang dianalisis pada tiap cawan ialah pada rentang 30-300 koloni cfu/mL.

Pengukuran *optical density* (OD) pada metode ini bertujuan untuk mengukur tingkat kekeruhan/kepadatan bakteri dengan cara melihat massa sel yang terbaca melalui nilai absorbansi yang dihasilkan. Pengukuran ini diamati menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm. Menurut Febriyansari (2008) panjang gelombang 600-625 nm digunakan untuk melihat tingkat kekeruhan larutan yang berwarna kuning hingga coklat. Setya dan Putra (2011), menyatakan bahwa sel-sel bakteri dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang 600 nm.

2.7 Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Uji MIC didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari logam yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri setelah diinkubasi. Metode yang digunakan adalah metode difusi cakram. Cara kerja metode ini yaitu kertas cakram yang telah direndam di dalam larutan logam akan ditempelkan pada media agar yang telah ditanami bakteri dan akan menghasilkan zona bening (zona hambat) disekitar cakram setelah masa inkubasi berlangsung (Jawetz, 2005). Zona hambat yang diukur adalah jarak dari tepi zona hingga tepi zona lainnya. Apabila ukuran zona hambat yang terbentuk lebih dari 1 mm maka bakteri tersebut tergolong

bakteri sensitif, sebaliknya bila ukuran zona hambat kurang dari 1 mm tergolong bakteri yang resisten (Sabdon, 2009).

Beberapa penelitian menyatakan bahwa bakteri dengan diameter ≤ 1 mm tahan (resisten) terhadap beberapa konsentrasi logam. Abdullah dkk (2018) dalam penelitiannya menyatakan bahwa satu isolat bakteri yang diisolasi dari penambangan emas tanpa izin (PETI) di Simpi, Sekadau, Kalimantan Barat tahan terhadap cekaman merkuri (Hg) pada konsentrasi 10 mg/L, yang ditandai dengan tidak terbentuknya diameter zona hambat. Penelitian Ihsanuddin (2018) menghasilkan diameter zona hambat sebesar 0,3 mm pada isolat S2-4 menggunakan logam vanadium (V) dengan konsentrasi 20 mM yang diisolasi dari limbah cair tambang minyak Wonocolo. Berdasarkan beberapa penelitian tersebut, dapat dikatakan bahwa beberapa bakteri resisten terhadap berbagai konsentrasi logam.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2019 sampai Maret 2020 di Laboratorium Biokimia jurusan Kimia fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat gelas, timbangan analitik, spatula, bunsen, botol semprot dan *hot plate*. Pengukuran pH sampel menggunakan pH indikator universal. Penanaman bakteri dilakukan di ruang *laminar air flow* (LAF). Penumbuhan bakteri menggunakan inkubator. Penamaan isolat dan inokulum menggunakan pulpen dan kertas label.

Pengambilan inokulum dan larutan kimia menggunakan *blue tip* dan *yellow tip*. Penentuan *optical density* (OD) menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Pengukuran diameter zona hambat menggunakan jangka sorong dan kertas Whatman No. 1. Penutup wadah penyimpanan media menggunakan kapas dan plastik *wrap*. Sterilisasi alat dan meja kerja menggunakan autoklaf, plastik anti panas, aluminium foil, dan *tissue*.

3.2.2 Bahan

Bahan utama yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah sampel air yang berasal dari bekas penambangan di Telaga Tiga Warna, Tulungagung. Bahan lain

yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Nutrient Agar* (NA) dan *Nutrient Broth* (NB) sebagai media pertumbuhan bakteri yang telah diperkaya dengan logam $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$. Pengenceran sampel air dan inokulum bakteri menggunakan aquades dan NaCl 0,85%. Sterilisasi alat dan meja kerja menggunakan alkohol 70%.

3.3 Tahapan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan tahapan sebagai berikut :

1. Pengambilan sampel
2. Isolasi bakteri pendegradasi logam
3. Uji morfologi bakteri
4. Perhitungan Jumlah Sel Bakteri
5. Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

3.4 Metode Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel

Sampel air diambil pada tiga titik yang berbeda dan dimasukkan ke dalam botol yang sudah disterilkan. pH dan suhu sampel diukur dan dibawa menuju laboratorium. Sampel air kemudian disimpan pada suhu 4°C sebelum dianalisis dan selama percobaan (Marzan dkk, 2017).

3.4.2 Isolasi Bakteri Pendegradasi Logam

Isolasi mikroba dilakukan dengan cara sampel air sebanyak 0,1 mL diinokulasi pada media *Nutrient Agar* (NA) yang sudah mengandung 2,5 mM logam berat Pb dengan menggunakan metode sebar (*spread plate*). Setelah itu,

diinkubasi menggunakan inkubator dengan suhu 37°C selama 2x24 jam. Cawan petri diamati untuk setiap jenis perkembangannya (Marzan dkk, 2017).

3.4.3 Regenerasi dan Uji Morfologi Bakteri

Regenerasi dan uji morfologi dilakukan dengan cara memindahkan 1 ose bakteri hasil isolasi ke dalam media agar steril. Setelah itu, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati morfologi yang dihasilkan. Pengamatan morfologi koloni yang dianalisis meliputi warna, bentuk, ukuran, tepi koloni, elevasi atau permukaan koloni dan sifat tembus cahaya (Putri dkk, 2017).

3.4.4 Uji Total Plate Count (TPC)

3.4.4.1 Persiapan Inokulum Bakteri

Bakteri yang telah diregenerasi diambil sebanyak 1-2 ose dan dimasukkan ke dalam 10 mL media NB. Setelah itu, *dishaker* pada kecepatan 120 rpm selama 18 jam pada suhu ruang. Masing-masing inokulum kemudian diukur nilai *Optical Density* (OD) dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 600 nm. Penyetaraan setiap inokulum yang akan dianalisis dilakukan sebanyak OD 0,5 (Park dan Lim, 2015; Lewaru dkk, 2012).

3.4.4.2 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri

Kultur yang sudah disiapkan diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam air fisiologis steril (0,85% NaCl) sebanyak 9 mL dalam 10 buah tabung reaksi, kemudian dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-10} . Penanaman bakteri dimulai dari pengenceran 10^{-5} hingga 10^{-10} dengan mengambil sebanyak 0,1 mL menggunakan metode *pour plate* dalam medium Nutrient Agar (NA) dan diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu ruang (Harmita dkk, 2008). Bakteri dapat

dihitung dengan cara memilih cawan petri yang mempunyai koloni antara 30-300.

Adapun perhitungan jumlah bakteri ditunjukkan pada persamaan 3.1 :

$$\text{Perhitungan jumlah bakteri (cfu/mL) : Jumlah koloni} \times \frac{1}{fp} \dots\dots\dots(3.1)$$

Keterangan : fp = faktor pengenceran

3.4.5 Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Uji *minimum inhibitory concentration* (MIC) dilakukan dengan merendam *paper disk* ke dalam larutan logam berat (Pb) dengan konsentrasi 6; 15; dan 30 mM selama 30-60 menit. Penanaman dilakukan menggunakan metode tuang (*pour plate*) dengan cara kultur bakteri diinokulasi pada media NA. *Paper disk* yang mengandung logam ditempelkan pada media NA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan tiga kali pengulangan pada masing-masing konsentrasi. Pengamatan dilakukan dengan mengukur zona hambat di sekitar kertas cakram menggunakan jangka sorong. Zona hambat kurang dari 1 mm tergolong ke dalam bakteri yang resisten (Husain dan Muchtar, 2005).

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahapan yang dilalui dalam penelitian ini adalah tahapan isolasi bakteri pendegradasi logam dan analisis ketahanannya dalam berbagai konsentrasi logam. Bakteri pendegradasi logam merupakan bakteri yang mampu mengurangi kadar pencemaran logam di lingkungan sekitar. Hal ini diakibatkan oleh kemampuannya dalam mempertahankan diri pada kondisi lingkungan dengan kadar logam yang tinggi.

4.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di Telaga Tiga Warna, Tulungagung. Sampel air diambil dari masing-masing telaga sebanyak 3 titik yang berbeda. Selain itu, diukur beberapa parameter lain seperti warna, pH dan suhu. Titik-titik pengambilan sampel dan hasil pengukuran parameter lingkungan dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Tabel 4.1.



Gambar 4.1 Lokasi titik pengambilan sampel Telaga Tiga Warna, Tulungagung (Dokumentasi Pribadi).

Tabel 4.1 Hasil pengukuran parameter lingkungan pada Telaga Tiga Warna

Sampel	Titik	Warna	Aroma	pH	Suhu (°C)
Telaga 1 (T1)	1	Hijau kebiruan	-	4	29
	2	Hijau kebiruan	-	4	28
	3	Hijau kebiruan	-	4	28
Telaga 2 (T2)	1	Coklat kehitaman	Menyengat	2	34
	2	Coklat kehitaman	Menyengat	2	34
	3	Coklat kehitaman	Menyengat	1	34
Telaga 3 (T3)	1	Hijau pekat	-	2	33
	2	Hijau pekat	-	2	33
	3	Hijau pekat	-	2	33

Berdasarkan pengukuran yang dilakukan, Telaga 1 memiliki warna hijau kebiruan tanpa aroma dengan pH 4 dan suhu antara 28-29°C. Telaga 2 berwarna coklat kehitaman dengan aroma yang menyengat, memiliki pH 1-2 dengan suhu 34°C. Telaga 3 berwarna hijau pekat tanpa aroma dengan pH 2 dan suhu 33°C. Akibat adanya kegiatan pertambangan sebelumnya, air telaga diduga telah memiliki berbagai macam kandungan logam, salah satunya yaitu logam Pb. Perbedaan hasil pengukuran parameter lingkungan pada masing-masing telaga seperti rendahnya pH dan perbedaan kondisi fisik air dimungkinkan akibat adanya kandungan logam yang telah melebihi ambang batas yang ditentukan.

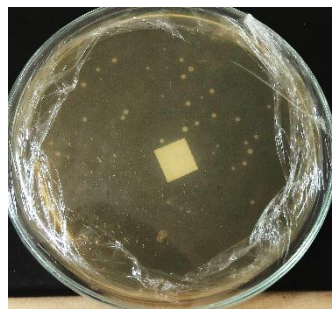
4.2 Isolasi Bakteri Pendegradasi Logam

Isolasi bakteri dilakukan untuk memperoleh bakteri yang dapat bertahan pada lingkungan dengan kadar logam tinggi. Metode yang digunakan dalam isolasi bakteri yaitu metode pengenceran bertingkat dan metode *spread plate*. Metode pengenceran bertingkat bertujuan untuk memperkecil atau mengurangi jumlah

mikroba yang tersuspensi di dalam cairan sehingga setelah diinkubasi akan terbentuk koloni pada cawan dalam jumlah yang dapat dihitung (Wasteson dan Hornes, 2009). Metode *spread plate* bertujuan agar penyebaran inokulum tumbuh secara merata di bagian permukaan media padat sehingga memudahkan dalam pengamatan dan pengambilan koloni untuk tahap selanjutnya (Hadioetomo, 1993). Gambar dan hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 4.2 dan Gambar 4.2.

Tabel 4.2 Hasil isolasi bakteri T1, T2, dan T3

Sampel	Pengenceran	Jumlah Koloni
Telaga 1 (T1)	10^{-1}	-
	10^{-2}	-
	10^{-3}	-
	10^{-4}	-
	Jumlah	0
Telaga 2 (T2)	10^{-1}	30
	10^{-2}	5
	10^{-3}	1
	10^{-4}	-
	Jumlah	36
Telaga 3 (T3)	10^{-1}	7
	10^{-2}	1
	10^{-3}	7
	10^{-4}	2
	Jumlah	17

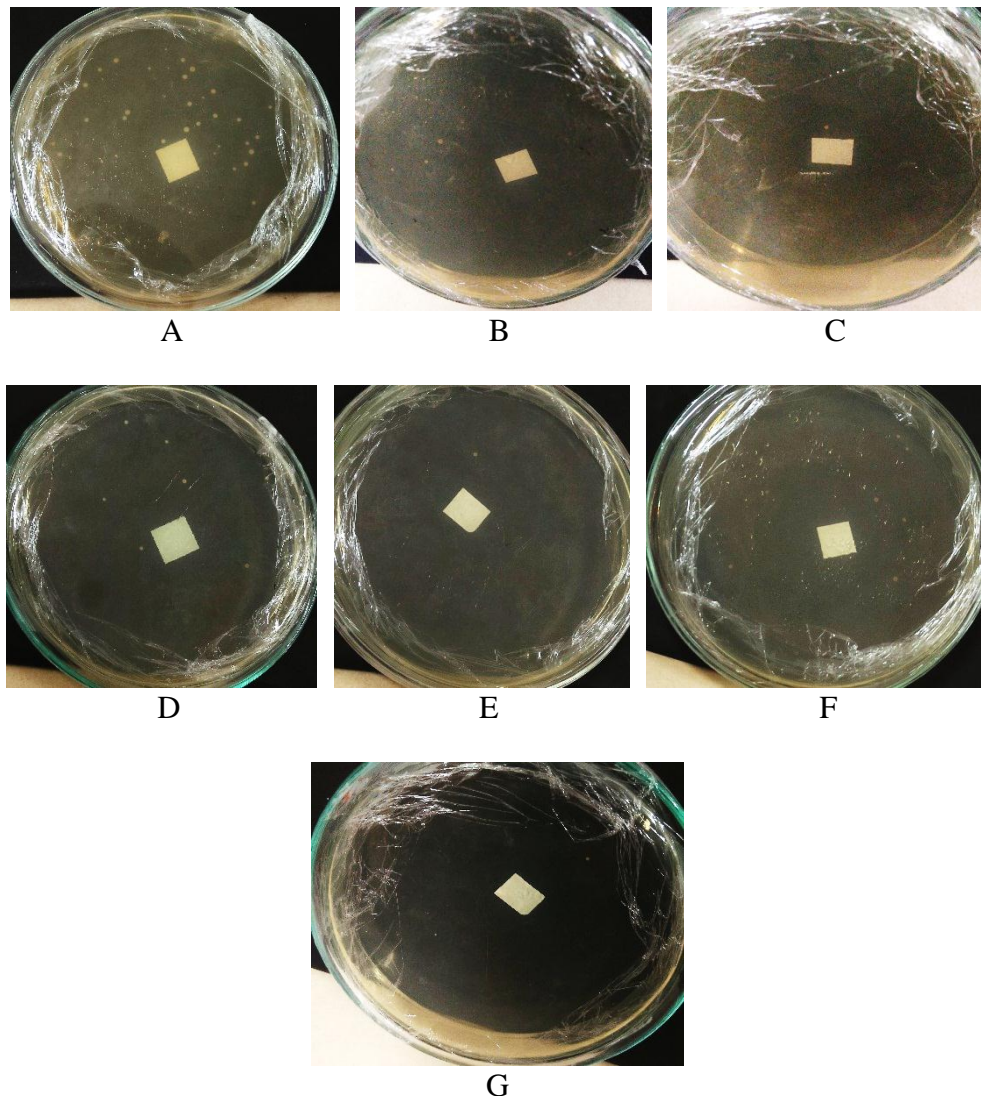


Gambar 4.2 Hasil isolasi bakteri.

Hasil isolasi berdasarkan jumlah koloni bakteri tiap cawan menunjukkan bahwa pada Telaga 1 tidak ada koloni yang tumbuh, sedangkan Telaga 2 dan Telaga 3 terlihat adanya koloni yang tumbuh berjumlah 36 dan 17 koloni (Tabel 4.2). Tidak tumbuhnya koloni bakteri pada Telaga 1 dimungkinkan akibat konsentrasi logam yang diberikan terlalu tinggi. Adanya koloni bakteri yang tumbuh pada Telaga 2 dan Telaga 3 diduga karena bakteri tersebut masih toleran terhadap konsentrasi logam yang diberikan. Sesuai dengan pernyataan Chander dan Brookes (1991), adanya konsentrasi logam berat yang tinggi akan menghambat pertumbuhan, mengubah morfologi dan mengganggu metabolisme dari organisme secara *in vitro*.

4.3 Regenerasi dan Uji Morfologi Bakteri

Isolat yang diperoleh dari hasil isolasi masing-masing dilihat bentuk morfologinya secara makroskopik. Uji ini dilihat dari warna, ukuran, bentuk, tepi dan elevasi/permukaan. Koloni bakteri hasil isolasi Telaga 2 dan 3 (Gambar 4.3) masing-masing memiliki morfologi yang sama yaitu memiliki bentuk bulat, berwarna putih kecoklatan, berukuran kecil, memiliki tepi rata dan permukaan yang timbul. Hasil uji morfologi dapat dilihat pada Lampiran 4.



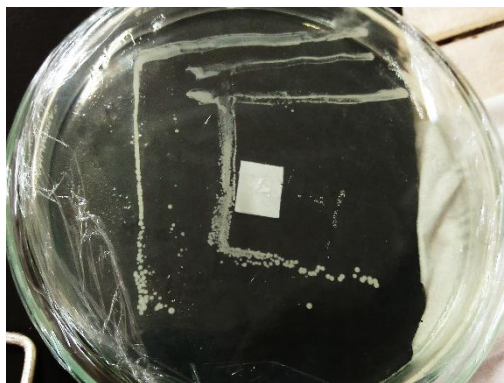
Gambar 4.3 Koloni bakteri hasil isolasi (A) Telaga 2 pengenceran 10^{-1} (B) Telaga 2 pengenceran 10^{-2} (C) Telaga 2 pengenceran 10^{-3} (D) Telaga 3 pengenceran 10^{-1} (E) Telaga 3 pengenceran 10^{-2} (F) Telaga 3 pengenceran 10^{-3} (G) Telaga 3 pengenceran 10^{-4} .

Berdasarkan hasil isolasi yang berjumlah 36 dan 17 koloni pada Telaga 2 dan Telaga 3 (Tabel 4.2) diperoleh 12 isolat yang akan diregenerasi, diantaranya yaitu 5 isolat dari Telaga 2 dan 7 isolat dari Telaga 3. Proses regenerasi bertujuan untuk mengaktifkan kembali bakteri yang telah inaktif akibat penyimpanan pada lemari pendingin, sehingga dapat berkembang biak dengan baik dan dapat digunakan sesuai dengan fungsinya (Charlena dkk, 2009). Hasil akhir dari

regenerasi ke-12 isolat tersebut, diperoleh 7 isolat akhir yaitu isolat T2P1a, T2P1b, T2P2 dari Telaga 2 dan isolat T3P1, T3P2, T3P3, dan T3P4 dari Telaga 3 yang akan digunakan untuk tahap selanjutnya. Isolat yang digunakan untuk tahap uji selanjutnya dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.4.

Tabel 4.3 Isolat yang digunakan untuk tahap selanjutnya

Sampel	Pengenceran	Jumlah Isolat	Kode
Telaga 2 (T2)	10^{-1}	2 (A dan B)	T2P1a dan T2P1b
	10^{-2}	1 (A)	T2P2
Telaga 3 (T3)	10^{-1}	1 (A)	T3P1
	10^{-2}	1 (A)	T3P2
	10^{-3}	1 (A)	T3P3
	10^{-4}	1 (A)	T3P4

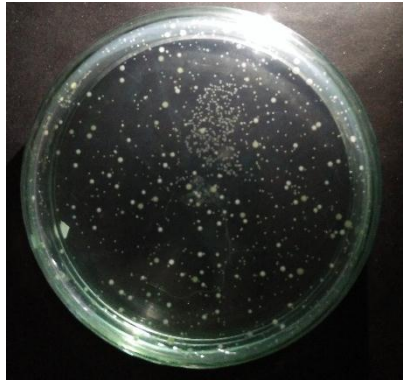


Gambar 4.4 Koloni bakteri setelah regenerasi.

4.4 Uji *Total Plate Count* (TPC)

Perhitungan jumlah sel bakteri dilakukan dengan metode *total plate count* (TPC). *Total plate count* (TPC) digunakan untuk menunjukkan jumlah mikroba

yang terdapat dalam suatu sampel dengan cara menghitung koloni bakteri yang ditumbuhkan pada media agar (Yunita dkk, 2015). Data TPC 1 ulangan dan perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 6 dan Lampiran 7. Selain itu, hasil TPC tiap sampel dapat dilihat pada Gambar 4.5 dan Tabel 4.4.



Gambar 4.5 Hasil uji *Total Plate Count* (TPC)

Tabel 4.4 Hasil uji *Total Plate Count* (TPC) tiap sampel

Sampel		OD	Total Koloni Bakteri (cfu/mL)
Telaga 2 (T2)	T2P1a	1,3318	$5,9 \times 10^6$
	T2P1b	1,7156	$1,2 \times 10^7$
	T2P2	1,4640	$1,3 \times 10^8$
Telaga 3 (T3)	T3P1	1,6080	$8,7 \times 10^7$
	T3P2	1,6986	$3,3 \times 10^{10}$
	T3P3	1,6892	$4,3 \times 10^6$
	T3P4	2,3467	$3,5 \times 10^6$

Inokulum bakteri yang digunakan ditumbuhkan pada media padat tanpa adanya kandungan logam Pb dengan masa inkubasi 2x24 jam pada suhu ruang. Jumlah koloni terbanyak yang dihasilkan pada Telaga 2 dan Telaga 3 berturut-turut yaitu isolat T2P2 dan T3P2 (Tabel 4.4) dengan jumlah koloni sebanyak $1,3 \times 10^8$ dan $3,3 \times 10^{10}$ cfu/mL. Pengkondisian bakteri yang ditambahkan saat uji ini

diberikan sebanyak OD 0,5 atau setara dengan 10^7 cfu/mL (Park dan Lim, 2015). Hasil OD yang diperoleh pada Tabel 4.4 menunjukkan adanya kenaikan dibandingkan dengan pengkondisian bakteri yang ditambahkan.

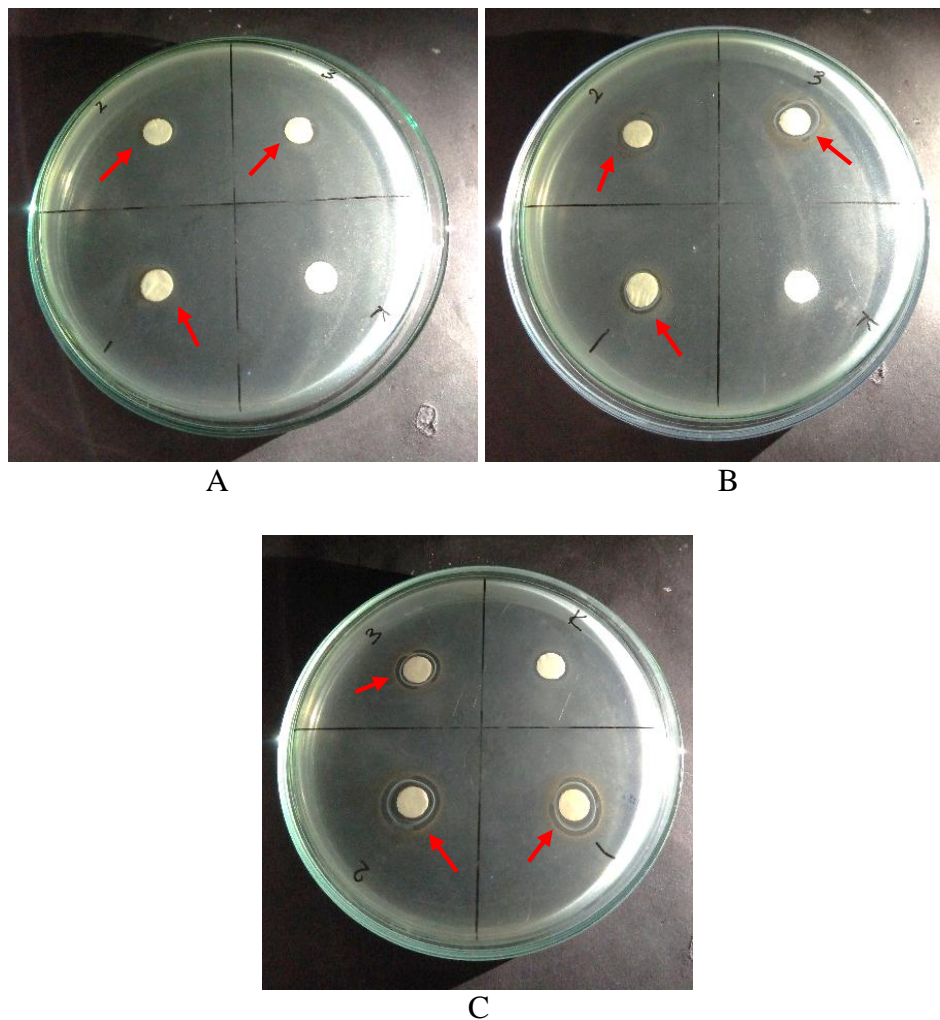
Nilai OD tertinggi dari seluruh isolat dihasilkan oleh isolat T3P4 dengan jumlah koloni sebesar $3,5 \times 10^6$. Jumlah koloni yang dihasilkan pada isolat T3P4 berbeda tipis dengan isolat T2P1a. Akan tetapi, nilai OD yang dihasilkan dari kedua isolat tersebut sangat jauh berbeda. Hal ini dimungkinkan karena uji *optical density* (OD) dapat menganalisis sel bakteri hidup maupun mati sedangkan pada metode TPC hanya menganalisis sel bakteri hidup.

Menurut Dwipayana dan Ariesyady (2010) metode uji pertumbuhan bakteri dengan pengukuran OD merupakan salah satu metode tidak langsung yang tidak dapat membedakan antara bakteri hidup dan mati, sehingga hasil pengukuran OD akan cenderung naik selama waktu pengujian. Sharah dkk (2015) juga menyatakan bahwa pengamatan OD dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dapat menghitung sel hidup dan mati sehingga menunjukkan nilai OD yang semakin tinggi. Sedangkan metode *plate count* menurut Fardiaz (2001), hanya dapat menaksirkan jumlah kepadatan bakteri yang masih hidup, hal ini didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang dapat hidup akan berkembang menjadi satu koloni.

4.5 Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Uji *minimum inhibitory concentration* (MIC) dilakukan dengan metode difusi cakram. Prinsip kerja dari metode ini yaitu kertas cakram yang telah menyerap larutan logam akan ditempelkan pada media padat berisi mikroba dan akan membentuk zona hambat (zona bening) di daerah sekitar cakram setelah

proses inkubasi berlangsung (Novita, 2016). Analisis ini bertujuan untuk mengetahui ketahanan bakteri terhadap logam Pb dalam berbagai konsentrasi. Hasil zona hambat dapat dilihat pada Gambar 4.6 dan Tabel 4.5 .



Gambar 4.6 Hasil zona hambat isolat T3P3 (A) Konsentrasi logam Pb 6 mM (B) Konsentrasi logam Pb 15 mM (C) Konsentrasi logam Pb 30 mM.

Tabel 4.5 Hasil uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) bakteri

Konsentrasi Logam Pb	Diameter Zona Hambat Sampel (mm)						
	T2P1a	T2P1b	T2P2	T3P1	T3P2	T3P3	T3P4
6 mM	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,53±0,25	0,05±0,07	0,00±0,00
15 mM	1,38±0,74	1,15±0,07	0,63±0,25	2,10±0,35	1,05±0,07	2,80±0,99	4,30±0,42
30 mM	1,70±0,71	4,43±0,11	1,75±0,78	3,90±1,13	3,08±0,32	4,45±0,35	6,30±0,14

Berdasarkan hasil yang diperoleh (Gambar 4.6 dan Tabel 4.5) terlihat adanya variasi ukuran diameter zona hambat dengan berbagai konsentrasi Pb. Seluruh isolat pada konsentrasi logam Pb 6 mM membentuk diameter zona hambat antara 0,00-0,53 mm. Konsentrasi logam Pb 15 mM menghasilkan diameter zona hambat antara 0,63-4,30 mm dan diameter zona hambat yang dihasilkan pada konsentrasi logam Pb 30 mM antara 1,70-6,30 mm.

Seluruh isolat pada konsentrasi logam Pb 6 mM membentuk diameter zona hambat paling rendah yaitu antara 0,00-0,53 mm (Tabel 4.5). Hasil tersebut menunjukkan bahwa beberapa isolat diduga sangat resisten terhadap logam Pb dengan konsentrasi 6 mM. Menurut Ulfa dkk (2016), suatu jenis bakteri bisa dikatakan resisten terhadap logam berat jika hasil pengukuran zona hambat pada pengujian metode difusi cakram sebesar ≤ 1 mm. Menurut Yulaipi dan Aunurohim (2013) bakteri mampu bertahan terhadap logam berat karena memiliki permukaan sel bermuatan negatif yang terbentuk dari berbagai struktur anion, sedangkan logam berat memiliki ion yang bermuatan positif, yang menyebabkan terjadinya ikatan antara permukaan sel bakteri dengan ion logam berat. Selain itu, bakteri juga dapat

mengakumulasi logam berat di dalam sel dengan membentuk ikatan antara logam berat dengan suatu protein dalam sel yang disebut metalotionein.

Logam Pb dengan konsentrasi 15 dan 30 mM diduga dapat menekan pertumbuhan bakteri sehingga membentuk diameter zona hambat yang lebih besar dibandingkan dengan konsentrasi 6 mM (Tabel 4.5). Hal ini menunjukkan bahwa diameter zona hambat berbanding lurus dengan konsentrasi logam Pb yang diberikan. Semakin tinggi konsentrasi logam Pb, maka diameter zona hambat yang terbentuk juga akan semakin besar.

Zona hambat yang dihasilkan pada penelitian Imamuddin (2001) menggunakan HgCl_2 dengan 9 isolat bakteri menunjukkan diameter zona hambat yang semakin besar seiring dengan meningkatnya konsentrasi logam yang diberikan, diameter zona hambat yang dihasilkan antara 0,00-17,00 mm. Penelitian Sabdono (2009) menggunakan 6 isolat bakteri juga menghasilkan zona hambat yang semakin besar seiring dengan besarnya konsentrasi logam Cu yang diberikan, hal ini ditunjukkan dengan adanya tanda negatif (tidak terbentuk zona hambat) menjadi positif (terbentuk zona hambat). Hal ini sesuai dengan hukum Arndt-Schultz yang menyatakan bahwa substansi toksik pada konsentrasi yang lebih rendah umumnya cenderung menstimulasi daripada menekan pertumbuhan (Iverson dan Brickman, 1978).

4.6 Manfaat Bakteri dalam Islam

Allah SWT. menjadikan manusia sebagai makhluk sempurna yang mempunyai derajat paling tinggi dibandingkan dengan makhluk yang lain. Manusia harus mampu menggunakan akalnya untuk berfikir dan dapat mengambil manfaat dari segala ciptaan Allah SWT. dengan baik dan benar. Berdasarkan ayat-ayat Al-

Quran, Allah SWT. sering kali menyeru manusia untuk memperhatikan dan merenungkan segala ciptaan-Nya yang amat menakjubkan agar senantiasa manusia selalu berfikir dan menjadi hamba Allah yang tunduk dan patuh. Sebagaimana Firman Allah SWT dalam Qs. Ali-Imran ayat 190 – 191.

إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ وَاخْتِلَافِ اللَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿١٩٠﴾ الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطِيلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”

Firman Allah tersebut menjelaskan bahwa Allah telah memberi pernyataan bahwa seluruh ciptaan-Nya yang ada dilangit maupun dibumi terdapat suatu tanda-tanda kebesaran-Nya. Namun Allah SWT membatasi tanda-tanda kebesaran-Nya yang hanya bisa diketahui bagi orang-orang yang mengkaji dan memikirkannya (*ulul albab*). Quraish Shihab (2004) menjelaskan bahwa *ulul albab* adalah orang yang mau menggunakan pikirannya, mengambil faedah dari ciptaan-Nya, hidayah dari-Nya dan menggambar keagungan Allah dan mengingat Allah dalam setiap keadaan.

Manurut tafsir Ibnu Kasir lafadz *إِنَّ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ* ini menjelaskan tentang kekuasaan dan kebesaran Allah SWT yang menciptakan alam beserta isinya seperti hewan dan tumbuhan. Tidak ada segala sesuatu yang diciptakan oleh Allah menjadi sesuatu yang sia-sia, melainkan Allah SWT menciptakan segala sesuatu dengan hikmah-hikmah tertentu. Sedangkan lafadz *لَآيَاتٍ لِّأُولِي الْأَلْبَابِ* menjelaskan

tentang akal manusia yaitu akal-akal yang sempurna lagi memiliki kecerdasan, karena dengan akal manusia dapat mengetahui segala sesuatu secara langsung dan jelas untuk merenungi tanda-tanda kekuasaan Allah SWT (Ad-Dymasyqy, 2000). Ayat tersebut seperti yang dilansir oleh Lajnah (2012) menyebutkan bahwa manusia sejak dulu sudah tergugah nalurinya untuk tahu lebih banyak keadaan alam semesta dan segala isinya, termasuk bumi. Berkembangnya dunia sains dan teknologi dewasa ini, para peneliti sedikit demi sedikit telah membuka rahasia alam semesta.

Salah satu yang dapat dipikirkan dalam dunia sains adalah melakukan penelitian mengenai apa yang ada di alam. Seperti halnya dalam melakukan pengkajian ilmu melalui penelitian ini yang mana merupakan salah satu upaya untuk mengambil manfaat dari bakteri. Penelitian ini mengkaji mengenai isolasi dan analisis ketahanan bakteri di daerah bekas tambang telaga tiga warna Tulungagung terhadap logam berat timbal (Pb). Bakteri ini memiliki manfaat dalam mendegradasi logam meskipun memiliki ukuran yang sangat kecil yang tidak dapat dilihat oleh indra manusia. Allah SWT berfirman dalam surat An-Nahl ayat 8.

وَالْخَيْلَ وَالْبِغَالَ وَالْحَمِيرَ لِتَرْكَبُوهَا وَزِينَةً وَيَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُونَ ﴿٨﴾

“Dan (Dia telah menciptakan) kuda, bagal dan keledai, agar kamu menungganginya dan (menjadikannya) perhiasan. Dan Allah menciptakan apa yang kamu tidak ketahui”.

Makna *وَيَخْلُقُ مَا لَا تَعْلَمُونَ* dalam Tafsir Jalalain menunjukkan bahwa Allah SWT telah menciptakan berbagai bentuk kehidupan makhluk-Nya dalam bentuk yang belum diketahui manusia berupa hal-hal aneh dan menakjubkan. Salah satu hal tersebut yaitu makhluk hidup yang berukuran mikro. Manusia mengetahui

adanya makhluk hidup berukuran mikro setelah ditemukannya alat mikroskop. Alat ini mampu membantu manusia dalam melihat makhluk hidup terkecil secara langsung menggunakan indra penglihatan.

Keberadaan makhluk terkecil ini memiliki manfaat penting dalam kelangsungan kehidupan di bumi. Salah satunya sebagai bakteri pengakumulasi logam yang mampu menyerap logam di lingkungan sekitar. Allah SWT berfirman dalam surat Al-Imran ayat 191.

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَمًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا سُبْحَنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ ﴿١٩١﴾

“(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka”.

Lafadz مَا خَلَقْتَ هَذَا بَطْلًا mengandung arti “tidaklah Engkau menciptakan semua ini dengan sia-sia”. Dalam Tafsir Jalalain, hal ini memiliki makna bahwa segala sesuatu di bumi ini tidak diciptakan dengan sia-sia oleh Allah sebagai bentuk kebesaran-Nya. Allah menciptakan mikroba dengan berbagai bentuk dan ukuran yang beragam. Meskipun begitu, mikroba tetap dapat menjalankan proses-proses yang menunjang kehidupannya sebagai makhluk uniseluler. Allah berkuasa menjadikannya dalam bentuk yang sederhana tetapi mampu bertahan hidup layaknya organisme tingkat tinggi.

Penelitian ini membuktikan adanya bakteri yang diisolasi dari sampel air di Telaga Tiga Warna, Tulungagung. Bakteri ini dianggap mampu bertahan dalam konsentras logam timbal (Pb) yang cukup tinggi. Hal ini dibuktikan dengan adanya uji ketahanan bakteri menggunakan metode difusi cakram. Hasil dari uji

tersebut menunjukkan bahwa beberapa bakteri dianggap mampu bertahan pada konsentrasi logam Pb sebesar 6 mM yang ditandai dengan tidak terbentuknya diameter zona hambat di sekitar cakram. Sedangkan pada konsentrasi logam Pb 15 dan 30 mM, bakteri dianggap kategori sensitif yang ditandai dengan membesarnya diameter zona hambat. Hasil penelitian ini diharapkan dapat diaplikasikan untuk mengurangi adanya kandungan logam Pb di lingkungan sekitar sebagai usaha dalam melestarikan lingkungan. Sesuai dengan firman Allah SWT. Surat Al-Qasas ayat 77.

وَابْتَغِ فِيمَا آتَاكَ اللَّهُ الدَّارَ الْآخِرَةَ وَلَا تَنْسَ نَصِيبَكَ مِنَ الدُّنْيَا وَأَحْسِنَ كَمَا أَحْسَنَ اللَّهُ إِلَيْكَ وَلَا تَبْغِ الْفُسَادَ فِي الْأَرْضِ إِنَّ اللَّهَ لَا يُحِبُّ الْمُفْسِدِينَ ﴿٧٧﴾

“Dan carilah pada apa yang telah dianugerahkan Allah kepadamu (kebahagiaan) negeri akhirat, dan janganlah kamu melupakan bahagianmu dari (kenikmatan) duniawi dan berbuat baiklah (kepada orang lain) sebagaimana Allah telah berbuat baik, kepadamu, dan janganlah kamu berbuat kerusakan di (muka) bumi. Sesungguhnya Allah tidak menyukai orang-orang yang berbuat kerusakan”.

Makna kalimat *“dan janganlah kamu berbuat kerusakan di (muka) bumi”* dalam Tafsir Jalalain memiliki makna jangan mengadakan (kerusakan di muka bumi) dengan mengerjakan perbuatan-perbuatan maksiat. Kemaksiatan yang dimaksud yaitu melakukan kerusakan lingkungan, merusak tanaman, membunuh hewan dan manusia, dan perbuatan buruk lainnya yang dilarang Allah SWT. Salah satu kemaksiatan yang terjadi dalam penelitian ini yaitu tidak mengolah limbah dengan benar sehingga menyebabkan adanya kandungan logam di lokasi tersebut. Oleh sebab itu, pada surat di atas Allah telah menganjurkan setiap umatnya untuk tidak berbuat kerusakan di muka bumi ini sebagai upaya untuk pelestarian lingkungan.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. Karakteristik 7 isolat bakteri yang diperoleh dari Telaga 2 dan Telaga 3 pada sampel air bekas tambang Telaga Warna Tulungagung rata-rata memiliki morfologi yang sama yaitu berbentuk bulat, berwarna putih kecoklatan, berukuran kecil, memiliki tepi rata dan permukaan yang timbul.
2. Beberapa isolat menunjukkan hasil yang resisten terhadap logam Pb dengan konsentrasi 6 mM berdasarkan uji *minimum inhibitory concentration* (MIC).

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya diharapkan dapat menguji kadar logam dalam sampel setelah proses sampling berlangsung dan juga uji degradasinya menggunakan AAS pada tahap akhir penelitian. Selain itu, diharapkan dapat menganalisis bakteri secara mikroskopik (uji gram dan endospora) dan uji biokimia (katalase, oksidase, indol, dll). Langkah terakhir diharapkan dapat mengidentifikasi bakteri berdasarkan gen 16S rRNA.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Hakim. L., Fitriandi, E., dan Rahmawati. 2018. Deteksi Keberadaan Bakteri Resisten Logam Merkuri (Hg) pada Penambangan Emas Tanpa Izin (PETI) di Simpi, Sekadau, Kalimantan Barat. *Indonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*, 1 (2) : 56-61.
- Ad-Dymasyqy, Al-Imam. A. F. I. I. K. 2000. *Tafsir Ibnu Kasir Juz 4 Ali Imran 92-An-Nisa 23*. Bandung: Sinar Baru Agensindo.
- Anjami, T. 2017. Dampak Sosial Penambangan Emas tanpa Izin (Peti) di Desa Sungai Sorik, Kecamatan Kuantan Hilir Seberang, Kabupaten Kuantan Singingi. *Jurnal Online Mahasiswa Fakultas Ilmu Sosial dan Ilmu Politik*, 4(2) : 1-13.
- Ariansyah, K. A., Yuliati, K., dan Hanggita R. J., S. 2012. Analisis Kandungan Logam Berat (Pb, Hg, Cu dan As) pada Kerupuk Kemplang di Desa Tebing Gerinting Utara, Kecamatan Indralaya Selatan, Kabupaten Ogan Ilir. *Jurnal Fisheries Product Technology*, 1(1) : 69-77.
- Arief, M., Sulmartiwi P. L., dan Septi M. 2010. Isolasi Bakteri Indigen Sebagai Pendegradasi Bahan Organik Pada Media Pembenihan Ikan Lele Jumbo. *Jurnal Ilmu Perikanan dan Kelautan*, 2(2) : 112-118.
- Berita Satu. 2015. *Ahli Geologi : Telaga Warna Tulungagung Mengandung Arsenik*. <https://www.beritasatu.com/nasional/274647-ahli-geologi-telaga-warna-tulungagung-mengandung-arsenik.html>. Diakses pada tanggal 28 Januari 2019.
- CCME (Canadian Council of Ministers of The Environment). 1999. *Canadian Sediment Quality Guidelines for The Protection of Aquatic Life : Lead and Copper*. Winnipeg : Manitoba Statutory Publications.
- Chander, K., dan Brookes, P. C. 1991. Microbial Biomass Dynamics During The Decomposition of Glucose and Maize in Metal-Contaminated and Non-Contaminated Soils. *Soil Biology Biochemistry*, 23(10) : 917-925.
- Charlena, Haris, A., dan Karwati. 2009. Degradasi Hidrokarbon pada Tanah Tercemar Minyak Bumi dengan Isolat A10 dan D8. *Prosiding Seminar Nasional Sains II*, 124-136.
- De fretes, C. E., Sutiknowati, L. I., dan Falahudin. 2019. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Toleran Logam Berat dari Sedimen Mangrove di Pengudang dan Tanjung Uban, Pulau Bintan, Indonesia. *Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, 4(2) : 71-77.
- Dharmawan, N. S. 2002. Pengantar Patologi Klinik Veteriner (Hematologi Klinik). Denpasar : Universitas Udayana.

- Dwidjoseputro, D. 1989. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Surabaya : Djambatan.
- Dwidjoseputro, D. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta : Djambatan.
- Dwipayana dan Ariesyady H. D. 2010. *Identifikasi Keberagaman Bakteri pada Lumpur Hasil Pengolahan Limbah Cat dengan Teknik Konvensional*. Bandung : Institut Teknologi Bandung.
- Ed-har, A. A., Widyastuti, R., dan Djajakirana, G. 2017. Isolasi dan Identifikasi Mikroba Tanah Pendegradasi Selulosa dan Pektin dari Rhizosfer *Aquilaria malaccensis*. *Buletin Tanah dan Lahan*. 1(1) : 58-64.
- Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta : Gramedia.
- Fardiaz, S. 2001. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta : Gramedia.
- Fardiaz. 2004. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Jakarta : PT. Raja Grafindo Persada.
- Febriyansari, A. N. 2008. Penerapan Model Gompertz Pada Pertumbuhan Bakteri *Lacidophilus* dan *B. Longum* di Media Adonan Es Krim (*Ice Cream Mix* atau *ICM*) Jenis Standar. *Skripsi*. Malang : Universitas Brawijaya.
- Fujiastuti, Said, I., dan Sakung J. 2013. Akumulasi Logam Timbal (Pb) dan Logam Tembaga (Cu) dalam Udang Rebon (*Mysis. Sp*) di Muara Sungai Palu. *Jurnal Akademika Kimia*, 2(3) : 128-133.
- Hadioetomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta : Gramedia.
- Harmita, dan Radji, M. 2008. *Kepekaan terhadap Antibiotik Edisi 3*. Jakarta: Buku Ajar Analisis Hayati.
- Husain, D. R., dan Muchtar, I. H. 2005. Bakteri Pengkompleks Logam Pb dan Cd dari Limbah Cair PT. Kawasan Industri Makassar. *Marina Chimica Acta*, 6(1) : 25-28.
- Ihsanuddin, M. 2018. Potensi Bakteri Resisten Vanadium (V) dari Limbah Cair Tambang Minyak Wonocolo sebagai Bioakumulator Vanadium (V). *Skripsi*. Malang : Jurusan Biologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ika, T., dan Said, I. 2012. Analisis Logam Timbal (Pb) dan Besi (Fe) dalam Air Laut di Wilayah Pesisir Pelabuhan Ferry Taipa Kecamatan Palu Utara. *Jurnal Akademika Kimia*, 1(4) : 181-186.
- Imamuddin, H. 2001. Resistensi Beberapa Isolat Bakteri terhadap Logam Berat (Hg, As, Cd, Ni, Pt dan Se). *Jurnal Biologi Indonesia*, III(2) : 161-167.
- Irianto, K. 2012. *Bakteriologi, Mikologi, Virologi*. Bandung : Alfabeta.

- Iverson, W. P., dan Brinckman F. E. 1978. *Water Pollution Microbiology*. Amerika Serikat : John Wiley & Sons Inc.
- Jawetz, M. A. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika.
- Jazairi, A. B. J. 2007. *Tafsir Al-Qur'an Al-Aisar*. Jakarta : Darus Sunnah Press.
- Kafilzadeh, F., Afrough, R., Johari, H., dan Tahery, Y. 2012. Range Determination for Resistance/Tolerance and Growth Kinetic of Indigenous Bacteria Isolated from Lead Contaminated Soils Near Gas Stations (Iran). *European Journal of Experimental Biology*, 2(1) : 62-69.
- Keputusan Menteri Negara Lingkungan Hidup. 2004. *Baku Mutu Air Laut*. Jakarta : Menteri Lingkungan Hidup.
- Kurniasari, R. M. 2005. Pengaruh Logam Berat terhadap Pertumbuhan Mikroorganisme Pendeградasi Minyak Diesel. *Skripsi*. Bogor : Jurusan Teknologi Industri Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Kurniawan. 2013. Pengaruh Kegiatan Penambangan Timah Terhadap Kualitas Air Laut dan Kualitas Ikan Kakap Merah (*Lutjanus Campechanus*) Hasil Tangkapan di Wilayah Pesisir Kabupaten Bangka Provinsi Kepulauan Bangka Belitung. *Tesis*. Diponegoro : Magister Manajemen Sumberdaya Pesisir dan Pantai Universitas Diponegoro.
- Lajnah Pentashihan Mushaf Al-Qur'an. 2012. *Tafsir Al-Qur'an Tematik Hukum, Keadilan dan Hak Asasi Manusia*. Jakarta : Aku Bisa.
- Lewaru, S., Riyantini, I., dan Mulyani, Y. 2012. Identifikasi Bakteri *Indigenous* Pereduksi Logam Berat Cr (VI) dengan Metode Molekuler di Sungai Cikijing Rancaekek, Jawa Barat. *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 3(4) : 81-92.
- Lindsey, H. D., James, M. M., dan Hector, M. G. 2004. An Assessment of Metal Contamination in Mangrove Sediments and Leaves from Punta Mala Bay, Pacific Panama. *Marine Pollution Bulletin*, 50 : 547-552.
- Manzur, I. 2003. *Lisanul Arab*. Kairo : Darul Hadis.
- Marzan, L. W., Hossain, M., Mina, S. A., Akter, Y., dan Chowdhury, A. M. M. A. 2017. Isolation and Biochemical Characterization of Heavy-Metal Resistant Bacteria from Tannery Effluent in Chittagong City, Bangladesh : Bioremediation Viewpoint. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 43 : 65-74.
- Maulana A., Supartono, dan Mursiti, S. 2017. Bioremediasi Logam Pb pada Limbah Tekstil dengan *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 6(3) : 256-261.
- Nainggolan, P. F. H. 2008. *Kajian Pemanfaatan Lumpur Limbah Water Treatment PT. Pupuk Kujang sebagai Media Tanam Arachis Hypogaea dengan*

Penambahan Mikoriza, Rhizobium, dan Pupuk Bolashi. Surabaya : FMIPA-ITS.

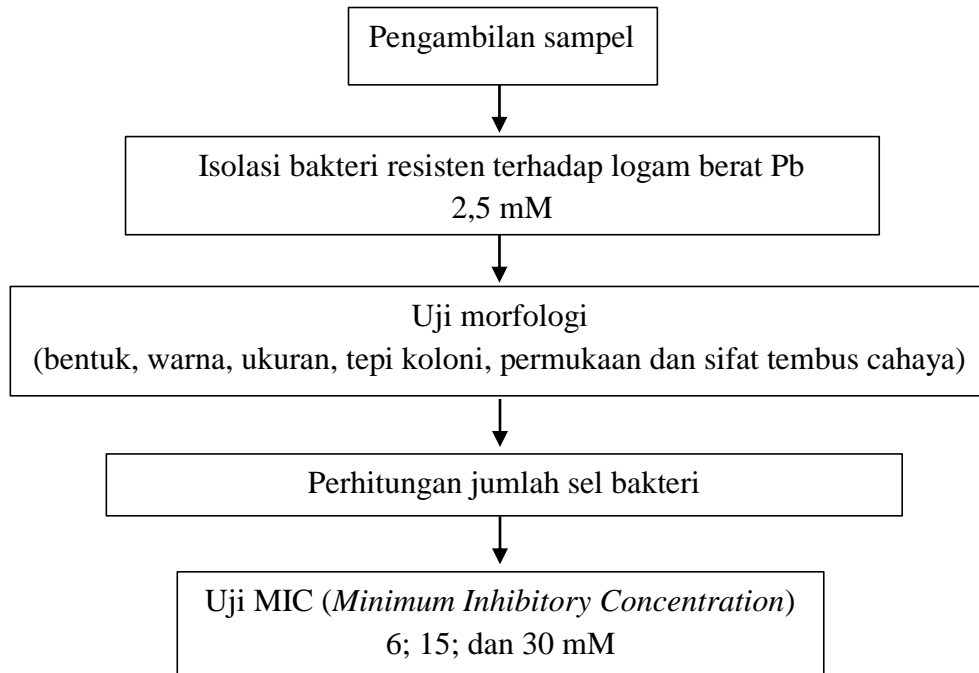
- Noviardi, R., dan Widodo. 2013. Analisis Kandungan Logam Berat pada Sumber Air di Kawasan Penambangan Emas Rakyat. *Seminar Nasional Kimia Terapan Indonsia*, 3 : 1-5.
- Novita, W. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Daun Sirih (*Piper Betle* L) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus Mutans* Secara *In Vitro*. *Jambi Medical Journal*, 4 (2).
- Nurtjahyani, S. D., dan Shyntya, D. 2014. Efektivitas Pengenceran terhadap Pertumbuhan Koloni Mikroba pada Saus Tomat. *Jurnal SAINTEK*, 11(2) : 65-68.
- Palar, H. 1994. *Pencemaran dan Toksikologi Logam Berat*. Jakarta : Rineka Cipta.
- Park, S. dan Lim, S. 2015. Probiotic Characteristics of *Lactobacillus plantarum* FH185 Isolated from Human Feces. *Korean Journal Food Science of Animal*, 35(5) : 615-621.
- Pratama, M. R., 2005. Pengaruh Ekstrak Serbuk Kayu Siwak (*Salvadora persica*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Streptococcus mutans* dan *Staphylococcus aureus* dengan Metode Difusi Agar. *Skripsi*. IPB. Bogor.
- Putri, M. H., Sukini, dan Yodong. 2017. *Bahan Ajar Keperawatan Gigi : Mikrobiologi*. Jakarta : KEMKES RI.
- Ridinata, A. 2012. Analisis Kontribusi Logam (Pb, Mn) Nitrat dan Sulfat dari Limbah Tambang Batubara pada Badan Air Sungai Pendulangan Desa Pangkalan Kuansing. *Skripsi*. Pekanbaru : Jurusan Kimia, Universitas Riau.
- Rochyatun, E., Lestari, dan Rozak, A. 2004. Kondisi Perairan Muara Sungai Digul dan Perairan Laut Arafura Dilihat dari Kandungan Logam Berat. *Jurnal Oseanologi dan Limnologi di Indonesia*, 36 :15-31.
- Rossidy, I. 2008. *Fenomena Flora dan Fauna dalam Perspektif Al-quran*. Malang : UIN-Maliki Press.
- Sabdono, A. 2009. Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Simbion Karang *Goniastrea aspera* Resisten terhadap Logam Berat Copper (Cu) dari Perairan Pulau Panjang, Jepara. *Ilmu Kelautan*, 14(3) : 117-125.
- Sabdono, A., Radjasa, O. K., dan Utomo, H. S. 2012. Screening of Multi-metal Resistances in a Bacterial Population Isolated from Coral Tissues of Central Java Coastal Waters, Indonesia. *International journal of Oceanography and Marine Ecological System*, 1(1) : 11-23.

- Setya, R. A., dan Putra, S. R. 2011. *Identifikasi Biohidrogen Secara Fermentatif dengan Kultur Campuran Menggunakan Glukosa Sebagai Substrat*. Surabaya : Kimia FMIPA ITS.
- Sharah, A., Karnila, R., dan Desmelati. 2015. Pembuatan Kurva Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat yang Diisolasi dari Ikan Peda Kembang (*Rastrelliger* sp.). *Jurnal Online Mahasiswa Bidang Perikanan dan Ilmu Kelautan*, 2(2) : 1-8.
- Shihab, Q. 2002. *Tafsir Al-Misbah Pesan, Kesan, dan Keserasian Al-Qur'an*. Jakarta : Lentera Hati Press.
- Shihab, Q. 2004. *Tafsir al-Misbah: Pesan, Kesan, dan Keserasian AlQur'an*. Jakarta: Lentera Hati. Vol. 3.
- Sukmawati. 2018. Isolasi Bakteri Selulolitik dari Limbah Kulit Pisang. *The Journal of Tropical biology*, 2(1) : 46–52.
- Suriyani, I. dan Kotijah, S. 2013. Kajian Islam dalam Masalah Lingkungan Hidup di Kota Samarinda. *Risalah Hukum Fakultas Hukum Unmul*, 9(1) : 71-78.
- Sutedjo, M. M. 1996. *Mikrobiologi Tanah*. Jakarta : PT. Rineka Cipta.
- Teras Jatim. 2015. *Telaga 3 Warna Tulungagung*. <https://www.terasjatim.com/telaga-3-warna-tulungagung/>. Diakses pada tanggal 21 Juli 2020.
- Ulfa, A., Suarsini, E., dan Muhdhar, M. H. I. 2016. Isolasi dan Uji Sensitivitas Merkuri Pada Bakteri dari Limbah Penambangan Emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat : Penelitian Pendahuluan. *Proceeding Biology Education Conference*, 3, 398-399.
- Wahyuni, E. S., dan Afdal. 2018. Identifikasi Hubungan Kandungan Logam Berat dengan Nilai Suseptibilitas Magnetik pada Tanah Lapisan Atas di Kota Sawahlunto. *Jurnal Fisika Universitas Andalas*, 7(1) : 1-7.
- Wahyuni, H., Setia B. S., dan Dwi P. S. 2013. Kandungan Logam Berat pada Air, Sedimen dan Plankton di Daerah Penambangan Masyarakat Desa Batu Belubang Kabupaten Bangka Tengah. *Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*. Hal : 489-494.
- Waluyo, L. 2005. *Mikrobiologi Umum*. Malang : UMM Press.
- Warni, D., Karina, S., dan Nurfadillah. 2017. Analisis Logam Pb, Mn, Cu, dan Cd pada Sedimen di Pelabuhan Jetty Meulaboh, Aceh Barat. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*, 2(2) : 246-253.
- Wasteson, Y., dan Hornes, E. 2009. Pathogenic Escherichia Coli Found in Food. *International Journal of Food Microbiology*, 12 : 103-114.

- Yulaipi, S., dan Aunurohim. 2013. Bioakumulasi Logam Berat Timbal (Pb) dan Hubungannya dengan Laju Pertumbuhan Ikan Mujair (*Oreochromis mossambicus*). *Jurnal Sains Dan Seni Pomits*, 2(2) : 166-170.
- Yunita, M., Hendrawan Y., dan Yulianingsih, R. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (Aerofood ACS) Garuda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) dengan Metode *Pour Plate*. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem*, 3(3) : 239.
- Zulaika, E., Luqman, A., Arindah, T., dan Sholikah, U. 2012. Bakteri Resisten Logam Berat yang Berpotensi sebagai Biosorben dan Bioakumulator. *Seminar Nasional Waste Management for Sustain Urban Development*, 1-5.

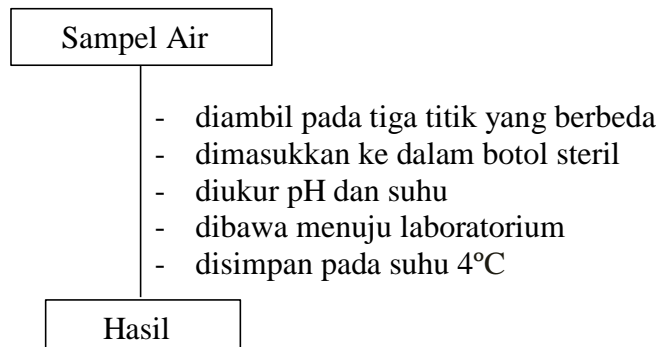
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

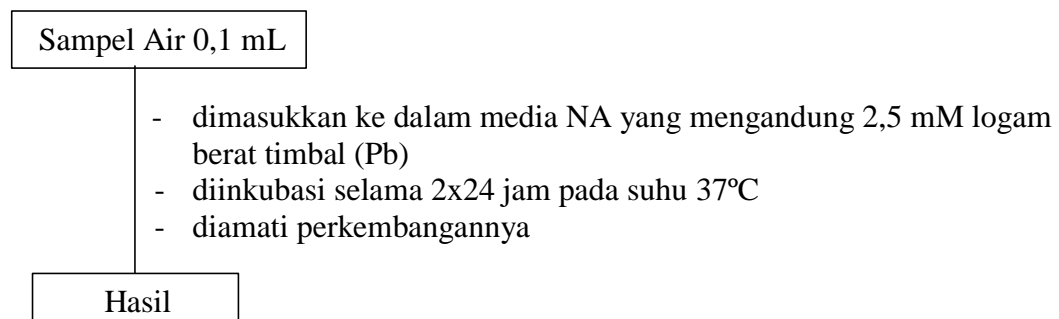


Lampiran 2. Diagram Alir

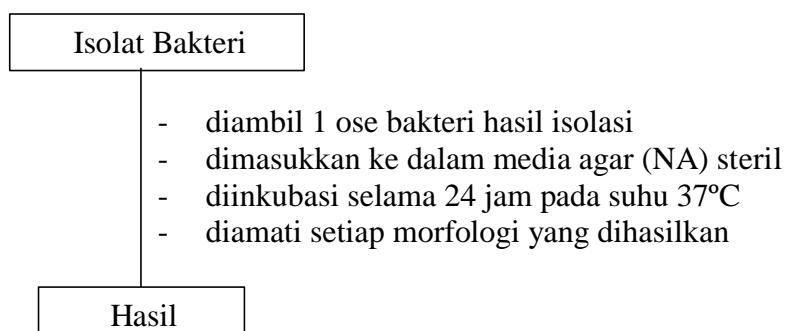
L.2.1 Pengambilan Sampel



L.2.2 Isolasi Bakteri Resisten terhadap Logam Berat

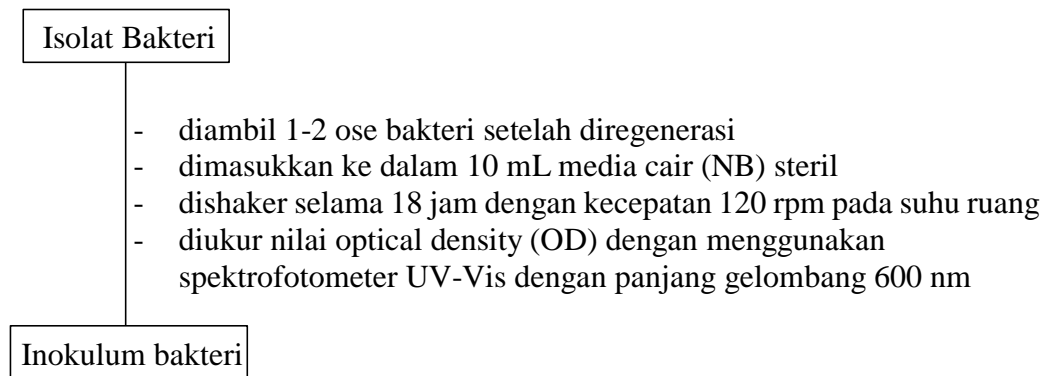


L.2.3 Regenerasi dan Uji Morfologi Bakteri

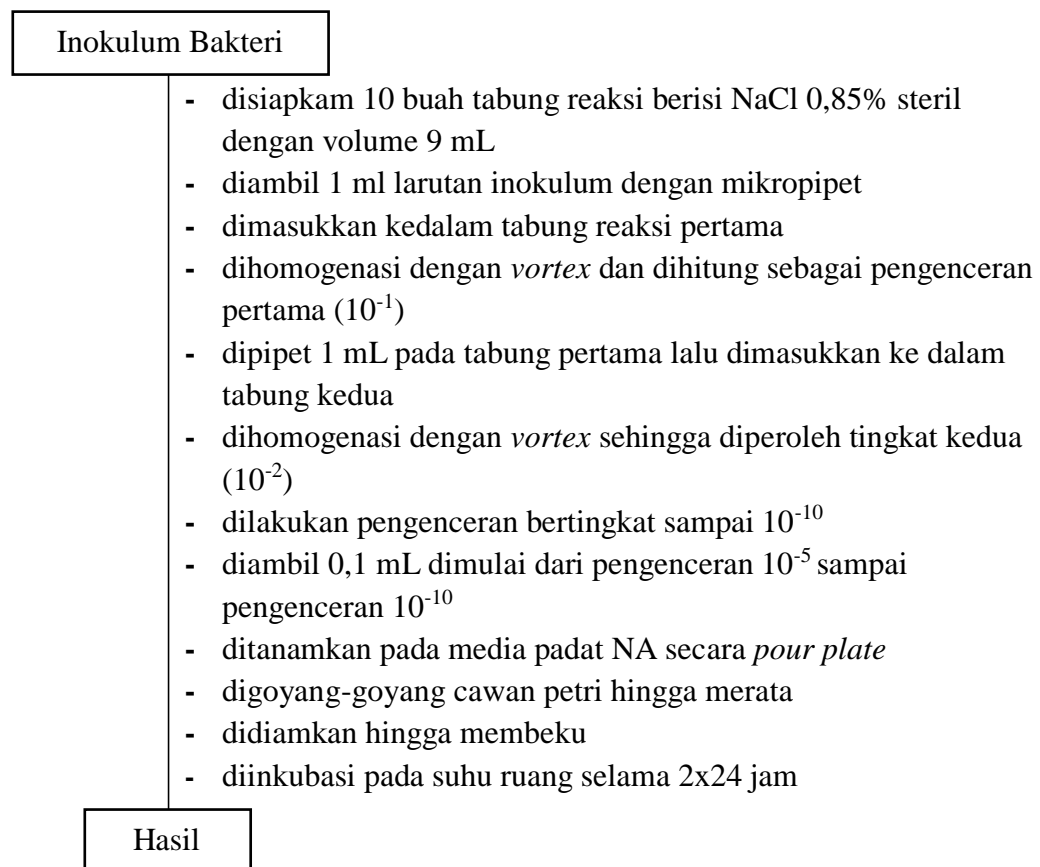


L.2.4 Penentuan Jumlah Sel Bakteri Menggunakan TPC

L.2.4.1 Persiapan Inokulum Bakteri



L.2.4.2 Perhitungan Jumlah Sel Bakteri



L.2.5 Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC)

Logam Berat Pb

- direndam *paper disk* dalam larutan logam dengan konsentrasi 6; 15 dan 30 mM
- didiamkan selama 30-60 menit
- dimasukkan ke dalam media NA yang sudah berisi kultur bakteri
- diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C
- dilakukan tiga kali pengulangan pada setiap konsentrasi
- diamati zona hambat yang terbentuk

Hasil

Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1 Pembuatan larutan $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$ 6; 15 dan 30 mM dalam 100 mL

$$6 \text{ mM} = 6 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$\begin{aligned} \text{Mol Pb}(\text{NO}_3)_2 &= 100 \text{ mL} \times 6 \cdot 10^{-3} \text{ M} \\ &= 0,1 \text{ L} \times 6 \cdot 10^{-3} \text{ mol/L} \\ &= 0,6 \times 10^{-3} \text{ mol} \\ &= 6 \times 10^{-4} \text{ mol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Massa Pb}(\text{NO}_3)_2 &= \text{mol} \times \text{Mr Pb}(\text{NO}_3)_2 \\ &= 6 \times 10^{-4} \text{ mol} \times 331 \text{ g/mol} \\ &= 0,1986 \text{ g} = 19,86 \text{ mg} \end{aligned}$$

Konsentrasi (mM)	n (10^{-4})	Massa (g)
15	15	0,4965
30	30	0,9930

Lampiran 4. Hasil uji morfologi koloni bakteri

Tabel L.1 Hasil uji morfologi koloni bakteri T2 secara makroskopik

Pengamatan	Telaga 2 (T2)		
	10⁻¹	10⁻²	10⁻³
Warna	Putih kecoklatan	Putih kecoklatan	Coklat
Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat
Ukuran	Kecil	Kecil	Kecil
Tepi	Rata	Rata	Rata
Permukaan	Timbul	Timbul	Timbul

Tabel L.2 Hasil uji morfologi koloni bakteri T3 secara makroskopik

Pengamatan	Telaga 3 (T3)			
	10⁻¹	10⁻²	10⁻³	10⁻⁴
Warna	Putih kecoklatan	Putih kecoklatan	Putih kecoklatan	Putih kecoklatan
Bentuk	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Ukuran	Kecil	Kecil	Kecil	Kecil
Tepi	Rata	Rata	Rata	Rata
Permukaan	Timbul	Timbul	Timbul	Timbul

Lampiran 5. Morfologi bakteri yang dipilih untuk regenerasi

Tabel L.3 Morfologi bakteri yang dipilih untuk regenerasi

Sampel	Pengenceran	Jumlah Koloni	Warna	Bentuk	Permukaan	
Telaga 2 (T2)	10 ⁻¹	2	A	Putih kecoklatan	Bulat	Timbul
			B	Putih	Bulat	Timbul
	10 ⁻²	2	A	Putih kecoklatan	Bulat	Timbul
			B	Putih kecoklatan	Bulat	Timbul
	10 ⁻³	1	Coklat	Bulat	Timbul	
Telaga 3 (T3)	10 ⁻¹	2	A	Putih kecoklatan	Bulat	Timbul
			B	Putih	Bulat	Timbul
	10 ⁻²	1	Putih kecoklatan	Bulat	Timbul	
	10 ⁻³	2	A	Putih kecoklatan	Bulat	Timbul
			B	Putih kecoklatan	Bulat	Timbul
	10 ⁻⁴	2	A	Putih kecoklatan	Bulat	Timbul
			B	Putih kecoklatan	Bulat	Timbul

NB : Hasil regenerasi setelah inkubasi dari ke-12 isolat menghasilkan 7 isolat, sisanya mengalami kontaminasi.

Lampiran 6. Data Total Plate Count (TPC) 1 ulangan

Pengenceran	T2P1a			T2P1b			T2P2			T3P1			T3P2			T3P3			T3P4		
	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata
10^{-5}	83	34	58,5	133	98	115,5	TBUD	TBUD	TBUD	492	736	614	59	68	63,5	48	38	43	31	39	35
10^{-6}	3	2	2,5	19	21	20	131	131	131	59	114	86,5	561	512	536,5	5	4	4,5	3	2	2,5
10^{-7}	1	1	1	3	1	2	16	39	27,5	2	5	3,5	229	254	241,5	0	3	1,5	1	1	1
10^{-8}	1	0	0,5	0	0	0	3	3	3	0	0	0	725	764	744,5	1	1	1	1	1	1
10^{-9}	0	1	0,5	2	1	1,5	7	14	10,5	0	0	0	105	90	97,5	1	1	1	1	1	1
10^{-10}	0	1	0,5	0	0	0	TBUD	TBUD	TBUD	0	3	1,5	7	12	9,5	38	8	23	0	0	0

Keterangan : **TBUD**= Terlalu Banyak Untuk Dihitung

 = Data yang dipilih dalam perhitungan

Lampiran 7. Perhitungan Data *Total Plate Count* (TPC)

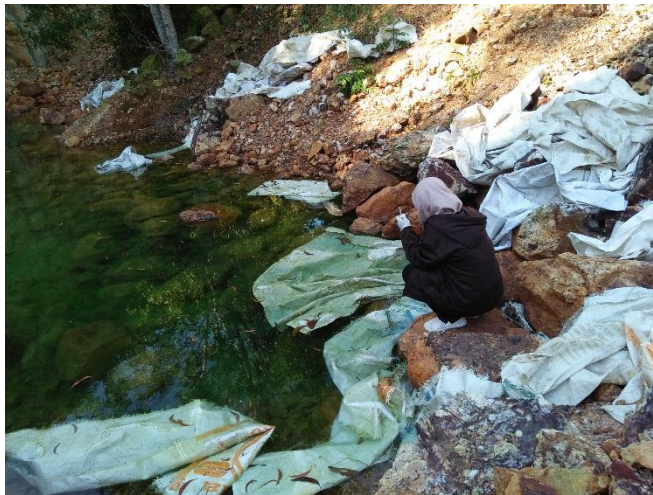
$$\text{Jumlah total bakteri (cfu/mL)} : \text{Jumlah koloni} \times \frac{1}{\text{fp}}$$

- **T2P1a**
 $\text{Cfu/mL} = 58,5 \times 1/10^{-5}$
 $= 5,9 \times 10^6$
- **T3P3**
 $\text{Cfu/mL} = 43 \times 1/10^{-5}$
 $= 4,3 \times 10^6$
- **T2P1b**
 $\text{Cfu/mL} = 115,5 \times 1/10^{-5}$
 $= 1,2 \times 10^7$
- **T3P4**
 $\text{Cfu/mL} = 35 \times 1/10^{-5}$
 $= 3,5 \times 10^6$
- **T2P2**
 $\text{Cfu/mL} = 131 \times 1/10^{-6}$
 $= 1,3 \times 10^8$
- **T3P1**
 $\text{Cfu/mL} = 86,5 \times 1/10^{-6}$
 $= 8,7 \times 10^7$
- **T3P2**
 1. $\text{Cfu/mL} = 63,5 \times 1/10^{-5}$
 $= 6,4 \times 10^7$
 $= 0,0064 \times 10^{10}$
 2. $\text{Cfu/mL} = 241,5 \times 1/10^{-7}$
 $= 2,42 \times 10^9$
 $= 0,242 \times 10^{10}$
 3. $\text{Cfu/mL} = 97,5 \times 1/10^{-9}$
 $= 9,75 \times 10^{10}$
$$\text{Cfu/mL total} = \frac{(0,0064 + 0,242 + 9,75) \times 10^{10}}{3}$$

$$= \frac{9,9984 \times 10^{10}}{3} = 3,3328 \times 10^{10} = 3,33 \times 10^{10}$$

Lampiran 8. Dokumentasi Kegiatan Penelitian

L.8.1 Sampling



L.8.2 Sampel Air Telaga 3 Warna



L.8.3 Regenerasi Bakteri



L.8.4 Inkubasi Bakteri

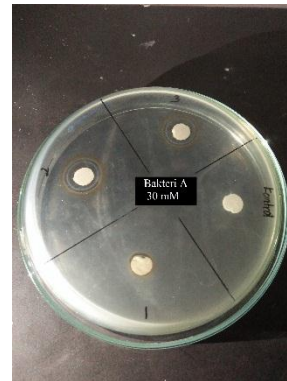
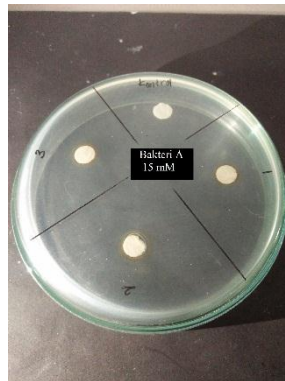
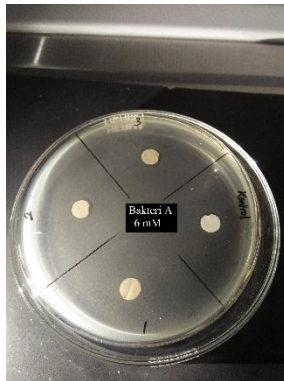


L.8.5 Persiapan Inokulum untuk Analisis OD

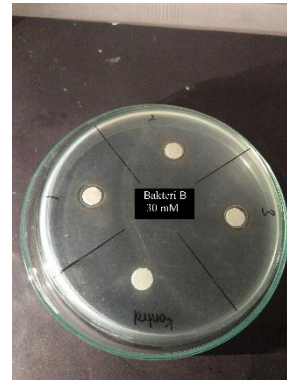
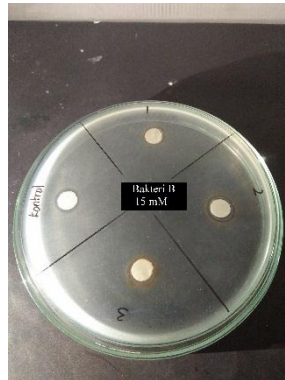
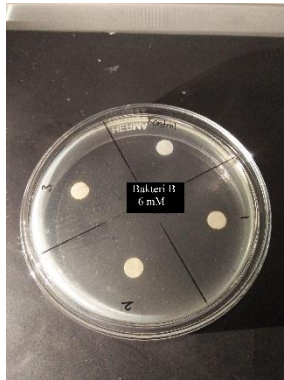


L.8.6 Zona Hambat Seluruh Isolat Bakteri

Isolat T2P1a



Isolat T2P1b



Isolat T2P2

